



**Universidad de Concepción
Facultad de Ciencias Biológicas**

Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas, área Biología Celular y Molecular

**CARACTERIZACIÓN DE LOS EFECTOS SINÁPTICOS DE LA
PRESENCIA DEL PÉPTIDO BETA AMILOIDE EN LAS NEURONAS
ESPINOSAS MEDIANAS DEL NÚCLEO ACCUMBENS DE RATONES
TRANSGÉNICOS APP^{swE}/E9Δ**

Tesis presentada a la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad de Concepción para optar al grado académico de Doctor en Ciencias Biológicas, área Biología Celular y Molecular.

NICOLÁS OSIEL RIFFO LEPE

Marzo 2026

Concepción, Chile

Profesor guía: Dr. Luis Gerardo Aguayo Hernández
Depto. Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas
Universidad de Concepción

Esta tesis fue realizada en el Departamento de Fisiología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Concepción.

Miembros del comité evaluador:

Dr. Luis Aguayo Hernández

Profesor guía

Universidad de Concepción

Dr. Francisco Nualart Santander

Evaluador interno

Universidad de Concepción

Dr. Jorge Fuentalba Arcos

Evaluador interno

Universidad de Concepción

Dra. Valentina Echeverría

Evaluadora externa

Universidad San Sebastián

Dra. Marcela Eliana Torrejón Quezada

Directora, Programa de Doctorado en Ciencias Biológicas,
área Biología Celular y Molecular
Universidad de Concepción

Dedicado a mis amores no humanos: Camechi, Indi, Rayito, Señor, y TW...

Tesis doctoral financiada por:

Proyecto internacional National Institutes of Health (NIH) R01AA025718 (2018 – 2022)

Proyecto ANID - FONDECYT Regular 1180750 (2018–2022)

Proyecto ANID - FONDECYT Regular 1221080 (2022–2026)

Beca Doctorado Nacional ANID folio 21202521 (2020 – 2024)

Beneficios complementarios, Beca ANID 21202521 (2022)

Beneficios internos UDEC, asistencia a conferencias internacionales (2023)

Extensión de beca doctoral ANID por COVID-19, Resolución 3047/2020 (2024)

Extensión de beca doctoral ANID por escritura de tesis (2024)

AGRADECIMIENTOS

Ante la complicada situación no solo nacional, sino también geopolítica, no puedo sentir más que agradecimiento por el inmenso privilegio que tenemos las personas que trabajamos en ciencia para producir conocimiento científico y evidencia que pueda modificar los paradigmas y dogmas que constantemente construimos los humanos.

Siento una especial gratitud a mi familia, que me ha apoyado no solo desde mi inicio como estudiante de Bioquímica o al ingreso al doctorado, sino desde siempre. Eterna gratitud a mis padres y mis hermanos por su apoyo incondicional y su constante entrega de energías positivas, estando presentes, interesados, y orgullosos de mi avance como científico. Agradezco especialmente también a mis abuelos por también siempre estar presentes de una u otra manera, aportando sabiduría y apoyo para mi entrenamiento internacional y mi término de doctorado. También, a todos mis amores cercanos, les agradezco por elegir estar cerca mío y quererme por como soy de manera incondicional.

Existe una idea del científico y científica como una persona aislada del mundo cotidiano, en un espacio reducido y realizando experimentos en soledad, sin embargo, ésta es una reducción injusta de la realidad, donde se invisibiliza que el trabajo científico es en realidad colectivo y colaborativo. En este sentido, mi agradecimiento está dirigido también a todas las personas con quien trabajé y trabajo en la actualidad, especialmente al departamento de Fisiología: secretaría, personal auxiliar, personal técnico, personal docente, la salita TOP, mi grupo de laboratorio, y mi profesor tutor de tesis. Todos aportaron a mi trabajo y desarrollo profesional, sin embargo, y más importante, aportaron a mi crecimiento como ser humano en sociedad.

Un especial reconocimiento y gratitud se llevan los animales de experimentación con los que trabajé. Los ratoncitos que formaron parte de mi trabajo no solo contribuyeron a evidencia científica nueva en la enfermedad de Alzheimer, sino que también me permitieron desarrollar la sensibilidad y fortaleza necesaria para trabajar con ellos de manera ética y respetuosa.

Agradezco profundamente la confianza, el apoyo, la paciencia, y los consejos de mi profesor tutor de tesis y guía científico desde que inicié mi carrera académica, Dr. Luis Aguayo, con quien trabajo desde mi tesis de pregrado, y que me ha enseñado desde el inicio tanto a nivel profesional como humano.

Finalmente, agradezco al estado de Chile en financiar mi formación doctoral y los proyectos en los que he trabajado, y me siento satisfecho con mi devolución, no solo por el conocimiento científico que produce sino también por las diversas actividades de divulgación y vinculación con el medio que organicé durante mi desarrollo como científico, conectando con el territorio y acercando la ciencia a la población.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	18
1.1 Enfermedad de Alzheimer	18
1.2 Los síntomas neuropsiquiátricos como manifestación temprana de la EA	18
1.3 Indicadores histopatológicos de la EA	19
1.4 El péptido beta-amiloide (A β)	20
1.5 Modelos animales de enfermedad de Alzheimer	21
1.6 Vulnerabilidad temprana del núcleo accumbens en la EA	23
1.7 Balance sináptico en el nAc y receptores AMPA	24
1.8 Plasticidad sináptica glutamatérgica en el nAc	27
2. PROBLEMA	34
3. HIPÓTESIS	35
4. OBJETIVOS	36
4.1 Objetivo General	36
4.2 Objetivos Específicos	36
4.2.1 Objetivo específico 1	36
4.2.2 Objetivo específico 2	36
4.2.3 Objetivo específico 3	36
4.2.4 Objetivo específico 4	36
5. METODOLOGÍA	37
5.1 Animales	37
5.2 Inmunohistoquímica	38
5.3 Tinción con Tioflavina-S	39
5.4 Preparación de agregados enriquecidos en oligómeros de A β	40
5.5 Registros electrofisiológicos en rebanadas coronales de cerebro	40
5.6 Registros en configuración voltage-clamp	41
5.7 Registros en configuración current-clamp	42
5.8 Estimulación sináptica y respuestas evocadas	42
5.9 Razón AMPA/NMDA	43

5.10	Razón de pulso pareado (PPR)	43
5.11	Índice de rectificación (IR)	43
5.12	Sensibilidad a NASPM	44
5.13	Depresión a largo plazo (LTD)	44
5.14	Inyecciones estereotáxicas.....	45
5.15	Fotometría de calcio.....	45
5.16	Western blot	46
5.17	qRT-PCR	47
5.18	Diseño experimental y análisis estadístico	47
6.	RESULTADOS	49
6.1	Objetivo específico 1: Analizar marcadores histopatológicos durante la progresión de la patología en el nAc de ratones transgénicos APP/PS1 y fluorescentes APP/PS1 ^{D1Tom}	49
6.1.1	Cuantificar niveles de A β intraneuronal en las MSNs accumbales de ratones WT y APP/PS1 mediante inmunohistoquímica y microscopia confocal, distinguiendo entre D1+ y D1- MSNs.....	49
6.1.2	Determinar la presencia de placas extracelulares de A β mediante tinción de Tioflavina-S en el nAc y corteza de ratones WT y APP/PS1 a 6 y 12 meses de edad.....	52
6.1.3	Analizar la población microglial en el nAc de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad mediante inmunohistoquímica	53
6.2	Objetivo específico 2: Caracterizar alteraciones en la excitabilidad neuronal, la transmisión sináptica excitatoria y la plasticidad sináptica de las MSNs, evaluando cambios pre y postsinápticos en el nAc de ratones APP/PS1 durante la progresión de la patología.	55
6.2.1	Caracterizar la excitabilidad neuronal en el nAc de ratones WT y APP/PS1 a 3 y 6 meses de edad mediante electrofisiología.	55
6.2.2	Analizar la transmisión sináptica excitatoria mediada por AMPARs en el nAc de ratones WT y APP/PS1 de 3 y 6 meses de edad mediante electrofisiología.	59
6.2.3	Evaluar la plasticidad sináptica en el nAc de ratones WT y APP/PS1 midiendo la depresión a largo plazo.....	62
6.2.4	Medir la razón de liberación de neurotransmisores mediante estimulación eléctrica pareada y determinar la razón AMPA/NMDA en las MSNs del nAc de ratones WT y APP/PS1	64

6.2.5	Determinar los niveles de expresión proteica mRNA de proteínas sinápticas mediante Western blot y qPCR en el nAc de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad.	68
6.2.6	Determinar la actividad de calcio mediada por AMPARs a través de fotometría, y la presencia funcional de CP-AMPARs mediante electrofisiología en rebanadas de nAc de ratones WT y APP/PS1.	71
6.3	Objetivo específico 3: Evaluar la contribución de la señalización dopaminérgica y los CP-AMPARs sobre la transmisión sináptica excitatoria y la depresión a largo plazo de las D1+ y D1- MSNs del nAc de ratones fluorescentes WT ^{D1Tom} y APP/PS1 ^{D1Tom}	76
6.3.1	Medir la transmisión sináptica excitatoria en D1+ MSNs y D1R- del nAc de ratones WT y APP/PS1 fluorescentes de 6 meses de edad.....	76
6.3.2	Evaluar la selectividad de la pérdida de LTD en MSNs D1+ y D1- del nAc de ratones fluorescentes WT ^{D1Tom} y APP/PS1 ^{D1Tom} de 6 meses de edad.	79
6.3.3	Determinar la contribución de CP-AMPARs a la disminución de la LTD en D1+ y D1- MSNs de ratones WT ^{D1Tom} y APP/PS1 ^{D1RtdT}	81
6.4	Objetivo específico 4: Evaluar causalidad entre la presencia intraneuronal de A β y cambios selectivos de la excitabilidad y transmisión sináptica excitatoria en D1+ MSNs mediante un modelo agudo exposición a A β intraneuronal.	85
6.4.1	Caracterizar los efectos agudos de la diálisis intraneuronal de oligómeros de A β sobre la excitabilidad de las D1+ MSNs y D1R- del nAc de ratones WT/D1RtdT.	85
6.4.2	Caracterizar los efectos agudos de la diálisis intraneuronal de oligómeros de A β sobre la transmisión sináptica excitatoria mediada por AMPARs en las de las D1+ MSNs y D1R- del nAc de ratones WT/D1RtdT.	88
7.	Discusión.....	91
8.	Conclusiones.....	103
9.	Bibliografía.....	104

Índice de Figuras

Figura 1: El núcleo Accumbens es un centro clave del sistema mesolímbico	24
Figura 2: Las neuronas espinosas medianas (MSNs) del nAc	26
Figura 3: Estructura de los receptores excitatorios de glutamato tipo AMPA y su permeabilidad a calcio	28
Figura 4: Mecanismos clásicos de plasticidad sináptica de largo plazo en el sistema nervioso central.	30
Figura 5: LTD dependiente de receptores metabotrópicos de glutamato mGluR1/5	31
Figura 6: A β se acumula intraneuronalmente en D1+ y D1- MSN del nAc de ratones APP/PS1 durante etapas pre-placa.....	51
Figura 7: Tinción con Tioflavina-S y análisis microglial en el nAc y la corteza de ratones APP/PS1 durante etapas pre-placa.....	54
Figura 8: La excitabilidad accumbal no se altera a los 3 meses, pero aumenta significativamente a los 6 meses de edad en ratones 2xTg	57
Figura 9: Alteraciones dependientes de la edad en la transmisión sináptica excitatoria mediada por AMPAR en el nAc de ratones APP/PS1	60
Figura 11: Alteraciones sinápticas relacionadas con AMPAR en el núcleo accumbens de ratones APP/PS1 de 6 meses de edad	69
Figura 12: Expresión relativa de las subunidades de receptores de glutamato en el núcleo accumbens de ratones WT y APP/PS1	71
Figura 13: Mayor contribución funcional de receptores AMPA permeables a calcio en el núcleo accumbens de ratones APP/PS1 en etapas pre-placa	74
Figura 14: Incremento selectivo de la transmisión excitatoria mediada por AMPAR en D1+ MSNs del núcleo accumbens de ratones APP/PS1 de 6 meses	77

Figura 15: Alteración selectiva de la LTD en D1+ MSNs del nAc de ratones APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses 80

Fig. 16. Alteración de la LTD dependiente de mGluR1/5 y desregulación de CP-AMPARs en D1+ MSNs del nAc de ratones APP/PS1^{D1Tom} 83

Figura 17: La diálisis intracelular de A β aumenta selectivamente los potenciales postsinápticos excitatorios espontáneos (sEPSPs) en D1R+ MSNs del nAc 86

Figura 18: La diálisis intraneuronal de A β incrementa selectivamente la excitabilidad intrínseca en D1+ MSNs del nAc de ratones WT^{D1Tom} 87

Figura 19. La diálisis intracelular de A β incrementa selectivamente la amplitud de mEPSCs mediadas por AMPAR en D1R+ MSNs del nAc 89

Figura 20: Modelo mecanístico propuesto que subyace al deterioro selectivo de la plasticidad sináptica en el núcleo accumbens durante las etapas tempranas de la enfermedad de Alzheimer 92

Abreviaciones

(EA) Enfermedad de Alzheimer

(A β) Péptido beta amiloide

(APP) Proteína precursora amiloide

(BASE1) Beta-secretasa

(PS1) Presenilina 1

(PS1 Δ E9) Presenilina 1 con delección de exón 9

(APP^{swe}/PS1 Δ E9) Ratón APP/PS1 transgénico con doble mutación en APP y PS1

(nAc) Núcleo Accumbens

(VTA) Zona tegmental ventral

(mPFC) Corteza prefrontal

(Hipp) Hipocampo

(Amy) Amígdala

(MSN) Neurona espinosa mediana

(D1R) Receptor de dopamina tipo D1

(D2R) Receptor de dopamina tipo D2

(D1+ MSNs) Neurona espinosa mediana que expresa receptor de dopamina D1

(D2+ MSNs) Neurona espinosa mediana que expresa receptor de dopamina D2

(AMPc) Adenosín monofosfato cíclico

(PKA) Proteína quinasa A

(AMPA) Receptor excitatorio de glutamato tipo AMPA

(NMDAR) Receptor excitatorio de glutamato tipo NMDA

(CI-AMPA) Receptor de AMPA impermeable a calcio

(CP-AMPA) Receptor de AMPA permeable a calcio

(LTP) Potenciación de largo plazo

(LTD) Depresión a largo plazo

(mGluR1/5) Receptores metabotrópicos de glutamato de la familia 1

(APP/PS1^{D1Tom}) Ratón transgénico APP/PS1 fluorescente con reportero TdTomato bajo promotor de D1R

(WT^{D1Tom}) Ratón negativo para APP/PS1, y positivo para el reportero TdTomato bajo el promotor de D1R

(Th-s) Tioflavina S

(MoAb2) Anticuerpo dirigido a péptido beta amiloide

(MAP2) Proteína asociada a microtúbulos

(Iba1) Molécula adaptadora 1 de unión a calcio ionizado

(RMP) Potencial de membrana en reposo

(pA) Pico amperio

(AP) Potencial de acción

(sEPSC) Corriente excitatoria postsináptica espontánea

(PTX) Picrotoxina

(mEPSC) Corriente miniatura postsináptica excitatoria

(CNQX) 6-ciano-7-nitroquinoxalina-2,3-diona, antagonista de AMPAR

(HFS) Estimulación eléctrica de alta frecuencia

(APV) 2-amino-5-fosfonovalerato, antagonista NMDAR.

(eEPSC) Corriente excitatoria postsináptica eléctricamente evocada

(DHPG) (RS)-3,5-dihidroxifenilglicina, agonista mGluR1/5

(GlyR) Receptor de glicina

(GABAAR) Receptor de GABA tipo A

(PPR) Razón por pulsos pareados

(mV) Milivolt

(qPCR) Reacción en cadena de la polimerasa cuantitativa

(SV2) Proteína sináptica vesicular 2

(PSD95) Proteína postsináptica 95

(GCaMP6s) Indicador de calcio codificado genéticamente GCaMP6s

(AAV) Virus adenoasociado

RESUMEN

La enfermedad de Alzheimer (EA) ha sido investigada predominantemente desde la perspectiva de etapas patológicas avanzadas con el fin de identificar los mecanismos subyacentes a la pérdida de memoria. En consecuencia, la investigación se ha centrado en circuitos corticales e hipocampales que presentan una neuropatología prominente en fases tardías y que impulsan el deterioro cognitivo. Sin embargo, los síntomas no cognitivos emergen con frecuencia durante fases más tempranas de la progresión de la enfermedad y se asocian con disfunción mesolímbica. El núcleo accumbens (nAc), un centro integrador crítico de este sistema, regula procesos motivacionales y hedónicos, y presenta alteraciones estructurales tempranas en pacientes con EA. A pesar de ello, los mecanismos sinápticos que subyacen a la vulnerabilidad del nAc durante etapas tempranas de la progresión de la patología, previas a la formación de placas seniles, permanecen pobremente definidos.

En el presente trabajo doctoral se combinaron registros electrofisiológicos de célula completa y manipulaciones farmacológicas para evaluar la transmisión sináptica excitatoria, la excitabilidad neuronal y la plasticidad sináptica en el nAc de ratones APP/PS1 en etapas pre-placa. Además, se realizaron análisis específicos por tipo celular utilizando ratones fluorescentes APP/PS1^{D1Tom} para identificar neuronas espinosas medianas (MSNs) que expresan el receptor de dopamina D1 (D1+ MSNs). A los 3 meses de edad, la acumulación intraneuronal de A β fue detectable en el nAc de ratones APP/PS1, pero no se asoció con alteraciones sinápticas. Interesantemente, a los 6 meses de edad, los niveles de A β intraneuronal aumentaron de manera comparable en D1+ MSNs y D1- MSNs respecto al control; sin embargo, solo las D1+ MSNs exhibieron una pérdida selectiva de depresión a largo plazo (LTD). Este déficit se asoció con un aumento

de la actividad excitatoria mediada por receptores AMPA permeables a calcio (CP-AMPARs), observando una mayor rectificación de entrada y mayor sensibilidad de las corrientes excitatorias al antagonista específico de CP-AMPARs NASPM. De manera similar, el análisis de las transitorias de calcio medido con el sensor de calcio GCamP6s mostro un incremento en la actividad de calcio modulada por AMPARs en el nAc de ratones APP/PS1 de 6 meses de edad. El aumento de CP-AMPARs se asoció a una selectiva reducción de la LTD dependiente de mGluR1/5 en D1+ MSNs de ratones APP/PS1^{D1Tom} fluorescentes, un mecanismo de plasticidad que normalmente induce la endocitosis de los CP-AMPARs para regular la fuerza sináptica. Finalmente, para identificar una relación causal entre la acumulación de A β intraneuronal y la potenciación de la neurotransmisión excitatoria y excitabilidad neuronal, se realizaron experimentos con un modelo de exposición aguda a la diálisis intraneuronal de A β en ratones control fluorescentes WT^{D1Tom}, reproduciendo el incremento en la transmisión excitatoria modulada por AMPARs y la excitabilidad específicamente en D1+ MSNs.

En conjunto, estos resultados identifican a la remodelación sináptica específica de las D1+ MSNs del nAc, mediada por la acumulación temprana de A β intraneuronal y la incorporación de CP-AMPARs, como un sustrato mecanístico de la disfunción mesolímbica y de los síntomas no cognitivos tempranos en la enfermedad de Alzheimer.

ABSTRACT

Alzheimer's disease (AD) has been predominantly investigated from the perspective of advanced pathological stages, with the aim of identifying mechanisms underlying memory loss. Consequently, research has largely focused on cortical and hippocampal circuits that exhibit prominent neuropathology in later stages and drive cognitive decline. However, non-cognitive symptoms frequently emerge during earlier phases of disease progression and are associated with mesolimbic dysfunction. The nucleus accumbens (nAc), a key integrative hub within this system, regulates motivational and hedonic processes and exhibits early structural alterations in AD patients. Despite this, the synaptic mechanisms underlying the vulnerability of the nAc during early stages of pathology, prior to senile plaque formation, remain poorly defined.

In this doctoral work, whole-cell patch-clamp electrophysiological recordings and pharmacological manipulations were combined to evaluate excitatory synaptic transmission, neuronal excitability, and synaptic plasticity in the nAc of APP/PS1 mice at pre-plaque stages. Cell-type-specific analyses were further conducted using fluorescent APP/PS1D1Tom mice to identify dopamine D1 receptor-expressing medium spiny neurons (D1+ MSNs). At 3 months of age, intraneuronal A β accumulation was detectable in the nAc of APP/PS1 mice but was not associated with synaptic alterations. Notably, at 6 months of age, intraneuronal A β levels increased comparably in both D1+ and D1- MSNs relative to controls; however, only D1+ MSNs exhibited a selective loss of long-term depression (LTD). This deficit was associated with enhanced excitatory activity mediated by calcium-permeable AMPA receptors (CP-AMPA), as evidenced by increased inward rectification and heightened sensitivity of excitatory currents to the selective CP-AMPA antagonist NASPM. Consistently, calcium transient analysis using

the GCaMP6s sensor revealed increased AMPAR-mediated calcium activity in the nAc of 6-month-old APP/PS1 mice. The upregulation of CP-AMPARs was further linked to a selective impairment of mGluR1/5-dependent LTD in D1+ MSNs from APP/PS1D1Tom mice, a form of plasticity that normally promotes CP-AMPAR endocytosis to regulate synaptic strength. Finally, to establish a causal relationship between intraneuronal A β accumulation and enhanced excitatory neurotransmission and neuronal excitability, acute intraneuronal A β dialysis experiments were performed in fluorescent WTD1Tom control mice, recapitulating the increase in AMPAR-mediated transmission and excitability specifically in D1+ MSNs.

Together, these findings identify cell-type-specific synaptic remodeling of D1+ MSNs in the nAc, driven by early intraneuronal A β accumulation and CP-AMPAR incorporation, as a mechanistic substrate underlying mesolimbic dysfunction and early non-cognitive symptoms in AD.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Enfermedad de Alzheimer

La enfermedad de Alzheimer (EA) es una patología neurodegenerativa progresiva y la principal causa de demencia a nivel mundial (Mielke et al., 2024). Este trastorno neurológico se produciría de la interacción compleja entre susceptibilidad genética y factores ambientales, incluyendo mutaciones en genes críticos para la función neuronal, así como determinantes sociales y estilos de vida que modulan el riesgo de desarrollar la enfermedad (Dubois et al., 2024; Migeot et al., 2025). En términos epidemiológicos, aproximadamente un 90% de los casos corresponde a la categoría de EA esporádica, en la cual los pacientes no presentan antecedentes familiares directos asociados a la enfermedad. El 10% restante corresponde a formas familiares o a casos asociados a mutaciones o polimorfismos genéticos que incrementan significativamente la probabilidad de desarrollar la patología (Dubois et al., 2024; Mielke et al., 2024).

Tradicionalmente, la EA ha sido considerada una enfermedad caracterizada por deterioro cognitivo progresivo asociado a degeneración neuronal extensa. Sin embargo, evidencia reciente indica que los procesos fisiopatológicos que subyacen a la enfermedad comienzan varios años antes de la aparición de los síntomas clínicos clásicos, sugiriendo que eventos celulares y moleculares tempranos desempeñan un rol determinante en el inicio y progresión de la patología (Dubois et al., 2024; Masters, 2015).

1.2 Los síntomas neuropsiquiátricos como manifestación temprana de la EA

El paradigma clásico de la EA ha posicionado la pérdida de memoria como la principal manifestación clínica de la enfermedad (Selkoe & Hardy, 2016). No obstante, en la última década se ha reconocido que, aproximadamente diez años antes de la aparición del deterioro cognitivo detectable, emergen alteraciones funcionales en diferentes regiones

cerebrales que se manifiestan como síntomas neuropsiquiátricos o no cognitivos. Entre estos se incluyen cambios en el estado de ánimo, desregulación hedónica, conductas compulsivas, apatía y depresión, los cuales han sido reportados como predictores robustos del posterior deterioro cognitivo en pacientes con EA (Masters, 2015; Shah et al., 2025; Wu et al., 2024).

Estos síntomas tempranos sugieren que los circuitos neuronales involucrados en la motivación, el procesamiento emocional y la regulación conductual pueden verse afectados antes que las redes corticales tradicionalmente asociadas con la memoria. Sin embargo, a pesar del extenso foco de investigación en los mecanismos celulares y moleculares que subyacen a la pérdida de memoria en la EA, se desconocen las alteraciones sinápticas y de circuito que emergen durante las etapas iniciales o preclínicas de la enfermedad. Diversos estudios han propuesto que estas alteraciones tempranas podrían estar relacionadas con la disfunción del sistema mesolímbico, un circuito neural crítico para la regulación de la motivación, la recompensa y el comportamiento dirigido a objetivos de carácter conscientes (Krashia, Nobili, et al., 2019; Riffo-Lepe et al., 2025).

1.3 Indicadores histopatológicos de la EA

La complejidad fisiopatológica de la EA se refleja en la coexistencia de múltiples mecanismos celulares que contribuyen al desarrollo y progresión de la enfermedad (Ebrahimi et al., 2025; Riffo-Lepe et al., 2025; Zheng & Wang, 2024). Entre las principales marcas histopatológicas se encuentra la acumulación anómala del péptido beta-amiloide ($A\beta$) y la presencia de agregados intracelulares de proteína Tau hiperfosforilada (pTau), sin embargo, está reportado que la acumulación de $A\beta$ ocurre previo a la formación de ovillos neurofibrilares, los cuales serían gatillados por oligómeros de $A\beta$ que inducen la

hiperfosforilación de la proteína Tau (Blomeke et al., 2024; Cacciaglia et al., 2025; Pradeepkiran et al., 2024).

Actualmente se reconoce que uno de los eventos tempranos en la patogénesis de la EA corresponde al incremento de la acumulación intraneuronal de A β . En etapas más avanzadas de la enfermedad, es común observar la presencia de placas extracelulares en el cerebro de pacientes *post-mortem* con EA, las cuales están compuestas principalmente de fibras de A β , proteínas asociadas, y detrito celular (Abyadeh et al., 2024; Cacciaglia et al., 2025; Cody et al., 2025; Wright et al., 2013). Además de estas marcas amiloides clásicas, otras hipótesis fisiopatológicas han sido propuestas para explicar la progresión de la enfermedad, como la tautopatía por el incremento de ovillos neurofibrilares de la proteína Tau hiperfosforilada (Blomeke et al., 2024), la disfunción mitocondrial (Kolonics et al., 2023; Reddy et al., 2018; Toledo et al., 2021; Verbal et al., 2026), neuroinflamación (Contreras et al., 2020; Krashia, Cordella, et al., 2019; Wright et al., 2013), falla del sistema vascular (DeTure & Dickson, 2019; Masters et al., 2015), disfunción colinérgica (Chan et al., 2017; Preda et al., 2008; Tropea et al., 2021), pérdida dopaminérgica (D'Amelio & Nistico, 2018; D'Amelio et al., 2018), y alteraciones del microbioma intestinal (Aguayo et al., 2018).

1.4 El péptido beta-amiloide (A β)

El péptido beta-amiloide está compuesto por entre 38 y 43 aminoácidos y se genera a partir del procesamiento proteolítico de la proteína precursora amiloide (APP). Mientras que el procesamiento de APP por el complejo enzimático de alfa-secretasas da origen a la denominada vía no amiloidogénica, el clivaje secuencial por las enzimas β -secretasa (BACE1) y γ -secretasa produce péptidos de A β mediante la vía amiloidogénica (LaFerla et al., 2007). En esta vía, la BACE1 realiza el clivaje inicial de APP, seguido por el

procesamiento del complejo γ -secretasa que genera fragmentos monoméricos de $A\beta$, principalmente $A\beta_{40}$ y $A\beta_{42}$. De estas especies, $A\beta_{42}$ presenta mayor hidrofobicidad y tendencia a auto agregarse, formando estructuras ricas en hojas β que dan origen a oligómeros (dímeros, trímeros y tetrameros) y posteriormente a agregados fibrilares (Abyadeh et al., 2024; Sepulveda et al., 2014; Zheng & Wang, 2024). Actualmente existe consenso en que los oligómeros de $A\beta$ constituyen las especies más neurotóxicas, capaces de alterar la homeostasis celular, modificar la función sináptica y perturbar el equilibrio entre excitación e inhibición neuronal. En contraste, los agregados fibrilares que conforman las placas amiloides se observan principalmente en etapas tardías de la enfermedad y se consideran un evento posterior dentro del proceso neurodegenerativo (Blomeke et al., 2024; Haass & Selkoe, 2007; LaFerla et al., 2007; Riffo-Lepe et al., 2025; Zheng & Wang, 2024).

1.5 Modelos animales de enfermedad de Alzheimer

En pacientes con EA se han identificado diversas mutaciones en el gen APP y en componentes del complejo γ -secretasa que incrementan la producción de $A\beta$ (Blennow et al., 2006). Un ejemplo ampliamente caracterizado corresponde a la mutación sueca en APP, donde la lisina en la posición 670 es reemplazada por asparagina (K670N) y la metionina 671 por leucina (M671L), lo que aumenta la eficiencia del clivaje por BACE1 y la generación de $A\beta$. Otra mutación relevante ocurre en el gen PSEN1, que codifica la proteína presenilina 1 (PS1), componente central del complejo γ -secretasa. La delección del exón 9 en PSEN1 (PS1 Δ E9) altera la actividad proteolítica de la enzima y favorece la producción relativa de $A\beta_{42}$ respecto a $A\beta_{40}$, promoviendo la agregación amiloide (DeTure & Dickson, 2019; Targa Dias Anastacio et al., 2024). Otro ejemplo más reciente y latinoamericano es la mutación "Paisa", identificada en una familia de Antioquia,

Colombia, en donde ocurre una sustitución en la región codificante del gen de la PS1, ocurriendo una sustitución nucleotídica de la Guanina (G) 519 por una Timina (T), siendo afectada la posición aminoacídica 173 de la proteína, ocurriendo el cambio aminoacídico de Leucina por Fenilalanina (Zapata-Restrepo et al., 2025). La progresión de la enfermedad en estos pacientes es agresiva y comienza en edades menores a 65 años con síntomas neuropsiquiátricos no cognitivos y leve o ausente daño cognitivo, sin embargo, rápidamente los síntomas empeoran en un rango de 10 años, describiéndose como Enfermedad de Alzheimer de desarrollo temprano (Zapata-Restrepo et al., 2025).

Para estudiar los mecanismos celulares asociados a la producción y acumulación de A β , se han desarrollado diversos modelos murinos transgénicos que incorporan mutaciones identificadas en pacientes. Entre ellos, el modelo doble transgénico APP^{swe}/PS1 Δ E9 (APP/PS1) expresa tanto la mutación sueca en APP como la delección del exón 9 en PSEN1 (Zhong et al., 2024). Estos animales presentan acumulación progresiva de A β en diferentes regiones del cerebro como la corteza y el hipocampo, acompañada de neuroinflamación, formación de placas amiloides y deterioro cognitivo detectable en paradigmas conductuales desde aproximadamente los 10 meses de edad (Blanchard et al., 2003; Garcia-Alloza et al., 2006; Zhong et al., 2024).

A pesar de la extensa utilización de estos modelos durante las últimas décadas, la mayor parte de la investigación se ha centrado en caracterizar las alteraciones asociadas a etapas avanzadas de la enfermedad, particularmente aquellas relacionadas con la pérdida de memoria. En contraste, los mecanismos fisiopatológicos que ocurren durante las fases tempranas de la enfermedad, antes de la aparición de placas amiloides y deterioro cognitivo manifiesto, han sido comparativamente menos explorados (Riffo-Lepe et al., 2025; Targa Dias Anastacio et al., 2022).

1.6 Vulnerabilidad temprana del núcleo accumbens en la EA

Aunque la mayoría de los estudios en EA se han enfocado en circuitos corticales e hipocampales debido a su relación directa con los procesos de memoria (Selkoe & Hardy, 2016; Shankar et al., 2008; Shepherd & Huganir, 2007; Turner et al., 2003), evidencia reciente indica que regiones del sistema mesolímbico también se ven afectadas durante etapas tempranas de la enfermedad (Contreras et al., 2020; Masters, 2015; Moreira et al., 2025; Nie et al., 2017; Pilotto et al., 2025; Riffo-Lepe et al., 2025)

El núcleo accumbens (nAc) es una estructura clave del estriado ventral y actúa como un centro integrador de información motivacional y emocional. Estudios de neuroimagen en pacientes con EA han reportado alteraciones en la conectividad funcional entre el nAc y múltiples regiones cerebrales, incluyendo la corteza prefrontal, la amígdala y el hipocampo (Contreras et al., 2020). A nivel estructural, se ha descrito una reducción significativa en el volumen del nAc en pacientes con deterioro cognitivo leve, correlacionando con la severidad del deterioro cognitivo (Nie et al., 2017). Asimismo, análisis longitudinales mediante resonancia magnética han demostrado que cambios estructurales en el nAc pueden predecir la progresión desde deterioro cognitivo leve hacia EA en un período de dos a tres años (de Jong et al., 2012). De manera consistente, otros estudios han reportado que la reducción volumétrica del nAc dentro del sistema mesolímbico constituye un predictor significativo de progresión desde deterioro cognitivo leve hacia EA (Yi et al., 2016).

Estos resultados sugieren que el nAc podría desempeñar un rol relevante en la fisiopatología temprana de la enfermedad. Sin embargo, los mecanismos celulares y

moleculares que determinan la vulnerabilidad de esta región durante las primeras etapas de la patología aún permanecen poco caracterizados.

1.7 Balance sináptico en el nAc y receptores AMPA

El nAc recibe aferencias glutamatérgicas desde múltiples regiones cerebrales, incluyendo el hipocampo, la amígdala, el subículo, el tálamo y la corteza prefrontal. Además, integra proyecciones dopaminérgicas provenientes del área tegmental ventral (VTA), participando en la regulación de procesos motivacionales y conductas dirigidas a la recompensa (Fig. 1) (Floresco, 2015; Gleichgerrcht et al., 2010; Nieoullon, 2002; Russo & Nestler, 2013). También, se reconoce la participación del nAc en la patofisiología de la adicción, el estrés, trastornos compulsivos, y depresión (Bayassi-Jakowicka et al., 2022; Italia et al., 2025; Klawonn & Malenka, 2018; Salgado & Kaplitt, 2015).

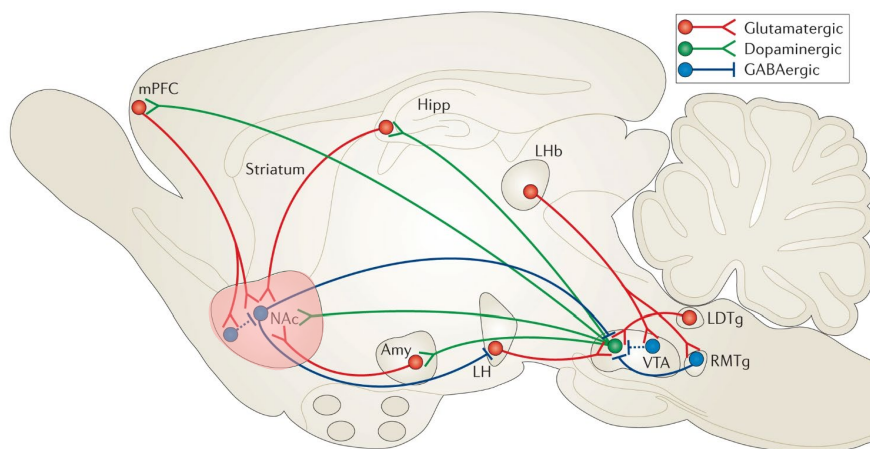


Figura 1: El núcleo Accumbens es un centro clave del sistema mesolímbico

Esquema simplificado del sistema mesolímbico, mostrando al núcleo accumbens (nAc) como centro integrador de señales aferentes excitatorias (rojas) que provienen de la corteza prefrontal (mPFC), el hipocampo (Hipp) y la amígdala (Amy), junto con terminales dopaminérgicas que provienen de la zona tegmental ventral (VTA). Además, se observan

fibras eferentes inhibitorias (azules) que salen del nAc para inhibir tanto el hipotálamo lateral (LH) como la VTA, participando directamente de la modulación de la liberación de dopamina en el circuito mesolímbico de la recompensa (Adaptado de Russo & Nestler, 2013).

Las neuronas espinosas medianas (MSNs) representan aproximadamente el 90% de la población neuronal del nAc. Estas neuronas corresponden a neuronas inhibitorias de proyección que liberan GABA y pueden clasificarse en dos subtipos principales: neuronas que expresan receptores dopaminérgicos tipo D1 (D1+ MSNs), que forman parte de la vía directa, y neuronas que expresan receptores tipo D2 (D2+ MSNs), que contribuyen a la vía indirecta (Fig. 2) (Floresco, 2015; Russo & Nestler, 2013). Estas dos poblaciones celulares participan de manera diferencial en la regulación de comportamientos motivacionales, donde la activación de la vía directa se ha asociado con conductas de recompensa, mientras que la vía indirecta se relaciona con procesos aversivos (Kourosh-Arami et al., 2022; Nestler & Luscher, 2019; Russo & Nestler, 2013).

Es importante destacar las diferencias entre el D1R y D2R en términos de la señalización intracelular que gatillan. Los D1R son receptores de dopamina acoplados a proteína G α s, que promueve la activación de la enzima adenilato ciclasa, incrementando los niveles de adenosín monofosfato cíclico (AMPC) y aumentando la actividad de la proteína quinasa A (PKA). A su vez, la PKA fosforila efectores río abajo, como los receptores de glutamato excitatorios tipo AMPA (AMPARs), siendo una cascada de señalización que aumenta la excitabilidad de la D1+ MSN. De manera opuesta, los D2R son receptores de dopamina acoplados a proteína G α i, lo cual promueve la disminución del AMPC y disminuye la actividad de la PKA, disminuyendo la excitabilidad de D2+ MSNs (Russo & Nestler, 2013;

Zhang et al., 2025). Esta importante diferencia entre las poblaciones accumbales tienen implicancias sobre los circuitos de recompensa, donde las D1+ MSNs participan de la vía directa de la recompensa, y las D2+ MSNs de la vía indirecta, asociadas a motivación y aversión respectivamente. Además, los receptores de dopamina participan directamente de la plasticidad sináptica accumbal, contribuyendo a la modulación de AMPARs durante el remodelamiento sináptico, ya sea incrementando la inserción o retiro de AMPARs mediante la activación o inhibición de PKA (Italia et al., 2025; Zhang et al., 2025), **sin embargo, aún se desconoce si existe una vulnerabilidad selectiva en las MSNs del nAc durante el desarrollo de la EA en términos de transmisión sináptica y plasticidad neuronal.**

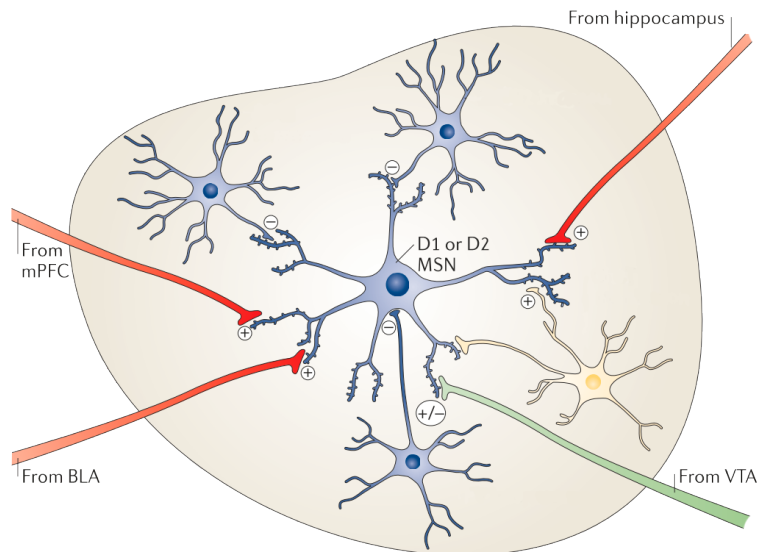


Figura 2: Las neuronas espinosas medianas (MSNs) del nAc

Esquema simplificado que muestra los principales tipos neuronales en el nAc, donde el 90% corresponde a MSNs de tipo D1 o D2 (que contienen el receptor de dopamina tipo D1 o D2 respectivamente). Estas neuronas son reconocidas por su gran arborización dendrítica espinosa, a diferencia de otros tipos neuronales de menor abundancia, como interneuronas inhibitorias y excitatorias. Las neuronas gabaérgicas del nAc integran

señales excitatorias tanto glutamatérgicas como dopaminérgicas, y modulan la conducta motivada mediante la vía directa (mediante D1+ MSNs) e indirecta (mediante D2+ MSNs) de la recompensa (Modificado de Russo & Nestler, 2013).

1.8 Plasticidad sináptica glutamatérgica en el nAc

El balance entre excitación e inhibición sináptica dentro de estos circuitos resulta fundamental para el control de la conducta motivada y la flexibilidad conductual (Li et al., 2025; Scaduto et al., 2023). En este contexto, la plasticidad sináptica es un fenómeno electrofisiológico crucial en el nAc para mantener la homeostasis sináptica, y depende principalmente de receptores excitatorios de glutamato tipo NMDA (NMDAR) y AMPA (AMPA), siendo los NMDARs canales iónicos permeables a Na^+ , K^+ y Ca^+ y bloqueados por Mg^{2+} , mientras que los AMPARs son permeables a Na^+ y K^+ principalmente, aunque también existen AMPARs que son permeables a Ca^{2+} que cobran un rol relevante en la modulación de la plasticidad sináptica (Huganir & Nicoll, 2013; Italia et al., 2025; Magee & Grienberger, 2020; Turner et al., 2018).

Los AMPARs están compuestos por combinaciones tetraméricas de las subunidades GluA1, GluA2, GluA3 y GluA4, que median la transmisión excitatoria rápida en el sistema nervioso central (Henley & Wilkinson, 2016). La conformación de las subunidades de estos receptores determina sus propiedades biofísicas y funcionales. En particular, AMPARs que contienen la subunidad GluA2 editada en el sitio Q/R son impermeables al calcio (CI-AMPA), mientras que los receptores que carecen de GluA2 o contienen GluA2 no editada presentan alta permeabilidad al calcio (CP-AMPA), muestran rectificación de entrada y son denominados receptores AMPA permeables a calcio (CP-AMPA) (Cull-Candy & Farrant, 2021; Henley & Wilkinson, 2016).

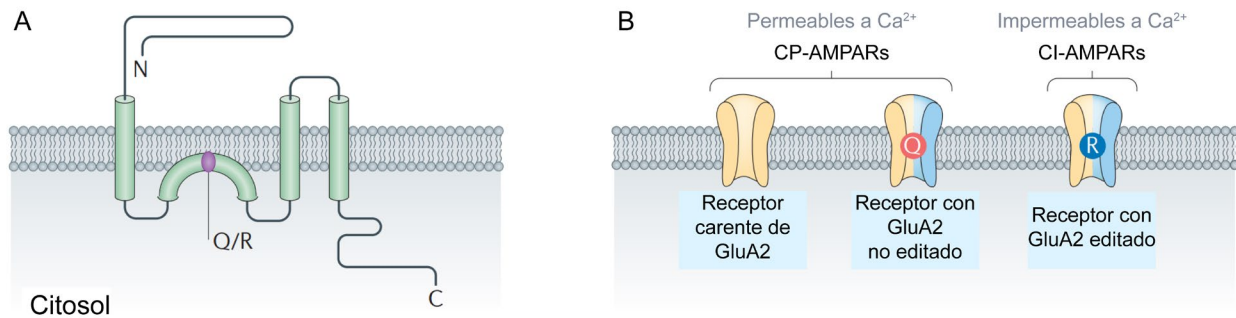


Figura 3: Estructura de los receptores excitatorios de glutamato tipo AMPA y su permeabilidad a calcio

(A) Representación esquemática de la topología de membrana de una subunidad del receptor AMPA (AMPA). Cada subunidad posee un dominio amino-terminal extracelular que contiene el sitio de unión al glutamato, tres dominios transmembrana completos, un bucle reentrante intracelular, que corresponde al sitio de edición Q607R en la subunidad GluA2, y un extremo carboxilo intracelular. Las subunidades se ensamblan para formar tetrámeros, y la mayoría de los AMPAR son heterotetrámeros. (B) AMPARs permeables a Ca^{2+} (CP-AMPARs) incluyen receptores que carecen de la subunidad GluA2 o que contienen GluA2 en su forma no editada (Q). En contraste, los AMPARs impermeables a Ca^{2+} (CI-AMPARs) contienen la subunidad GluA2 editada, en la cual la glutamina (Q) en la posición 607 ha sido reemplazada por una arginina (R), lo que impide la permeabilidad al calcio (Modificado de Henley & Wilkinson, 2016).

El clásico modelo de plasticidad sináptica de largo plazo sostiene dos mecanismos principales: la potenciación de largo plazo (LTP) y la depresión de largo plazo (LTD). Estos mecanismos dependen de la frecuencia, temporalidad e intensidad de los estímulos presinápticos, siendo cruciales para modular la fuerza sináptica (Henley & Wilkinson, 2016). La LTP ocurre cuando un estímulo presináptico significativo despolariza la neurona

postsináptica, liberando el ion magnesio que bloqueaba el NMDAR, y permitiendo la entrada de Ca^{2+} a la neurona, activando efectores río abajo que inducen en un último nivel un mayor número de AMPARs insertados en la membrana neuronal postsináptica, permitiendo que la entrada de sodio sea mayor con el mismo estímulo presináptico, potenciando la respuesta postsináptica, mientras que la LTD se produce cuando un aumento de calcio, menor que durante la LTP, y sostenido en el tiempo, induce la activación de distintos efectores río abajo que terminan en la disminución de AMPARs mediante endocitosis o bloqueo de los mismos (Fig. 4) (Diering & Huganir, 2018; Henley & Wilkinson, 2016). Actualmente se reconoce que los mecanismos de plasticidad sináptica son fenómenos complejos en los que participan diferentes receptores en la modulación de la LTP y LTD además de los NMDARs, dependiendo de la región cerebral, y que se integran en las conductas y funciones complejas de los animales, como la memoria, la motivación, o el lenguaje (Italia et al., 2025; Muñoz de Leon-Lopez et al., 2025), sin embargo, se desconoce cómo son afectados en el contexto de patologías neurodegenerativas como la EA, especialmente en el nAc, una región altamente inhibitoria donde la entrada excitatoria debe ser finamente regulada (Kauer & Malenka, 2007; Paoletti et al., 2013).

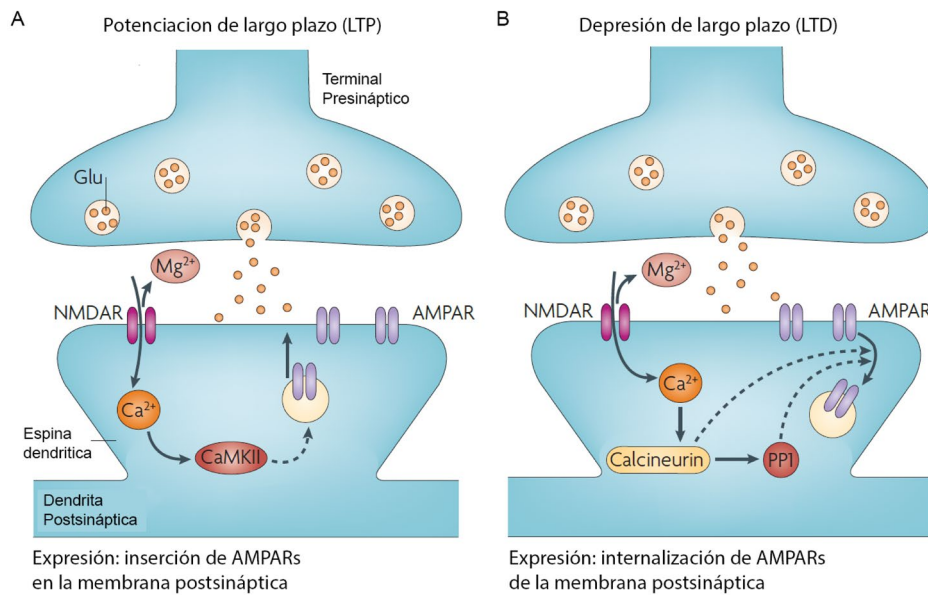


Figura 4: Mecanismos clásicos de plasticidad sináptica de largo plazo en el sistema nervioso central.

(A) La LTP dependiente de NMDARs ha sido observada en muchas regiones cerebrales y es dependiente de la activación de NMDARs en la membrana postsináptica y la quinasa dependiente de calcio/calmodulina (CaMKII) para ser gatillada. (B) La LTD dependiente de NMDARs es activada por la entrada de calcio mediante canales NMDARs, llevando a la activación de fosfatasa como la calcineurina y la fosfatasa 1 (PP1), generando internalización de AMPARs y la regulación negativa de NMDARs (modificado de Kauer & Malenka, 2007).

En el nAc, dado que es una región altamente inervada por fibras excitatorias y contiene abundantes neuronas de proyección gabaérgicas, el fenómeno de plasticidad sináptica predominante es la LTD, actuando como un mecanismo homeostático que limita la entrada excitatoria glutamatérgica (Kauer & Malenka, 2007; Thomas et al., 2001). En el nAc, a diferencia de otras regiones cerebrales como el hipocampo o la corteza, predominan formas de plasticidad sináptica que no dependen de los NMDARs, y que

participan del remodelamiento de los AMPARs. Por ejemplo, un mecanismo predominante de LTD en el nAc está mediado por la activación de receptores metabotrópicos de glutamato del grupo I (mGluR1/5), los cuales promueven la endocitosis de AMPARs permeables a calcio (CP-AMPARs), regulando la sobreexcitación neuronal (Luscher & Huber, 2010; Mango & Ledonne, 2023). (Fig. 5)

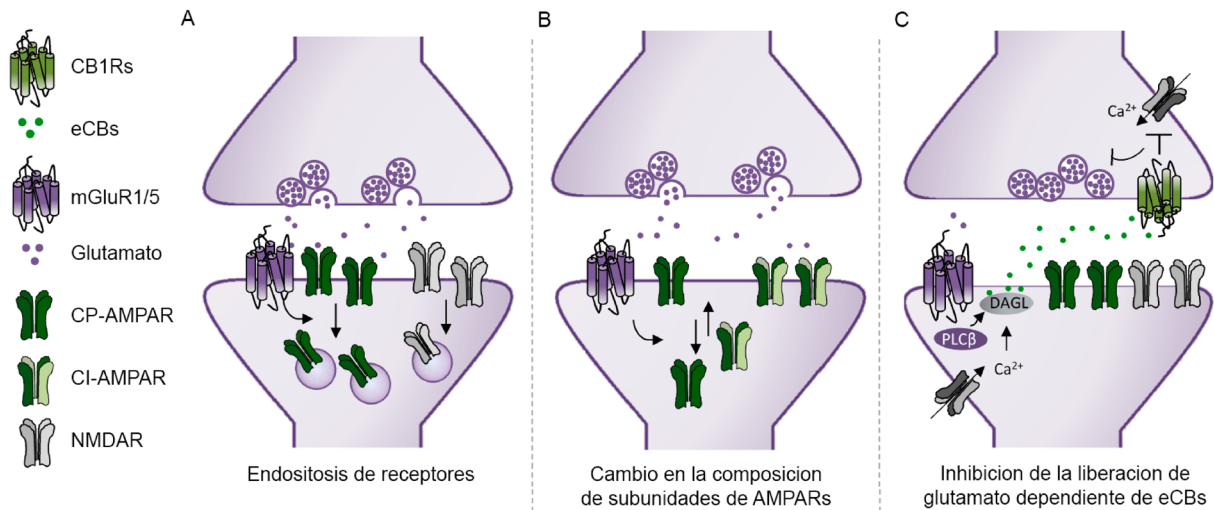


Figura 5: LTD dependiente de receptores metabotrópicos de glutamato mGluR1/5

Modelo esquemático del mecanismo predominante de LTD en las MSNs del nAc dependiente de receptores postsinápticos metabotrópicos de glutamato de la familia 1 (mGluR1/5). (A) La activación de los mGluR1/5 produce la internalización de AMPARs o NMDARs, disminuyendo las corrientes sinápticas glutamatérgicas. (B) Otro mecanismo postsináptico asociado a la activación de mGluR1/5 promueve un cambio en los AMPARs sinápticos, induciendo el retiro de CP-AMPARs y la inserción de CI-AMPARs, que presentan menor conductancia iónica. (C) La estimulación de mGluR1/5 también gatilla la síntesis de endocannabinoides (eCBs) en el compartimento postsináptico. Luego, actuando en receptores presinápticos de cannabinoides (CB1Rs), los eCBs producen la disminución de la liberación de glutamato (modificado de Mango & Ledonne, 2023)

Se reconoce que la alteración de la LTD mediada por mGluR1/5 en el nAc favorece la acumulación sináptica de CP-AMPARs, lo cual potencia la transmisión excitatoria y fortalece la salida de la vía directa del nAc (Cull-Candy & Farrant, 2021; Zinchenko et al., 2024). Este fenómeno ha sido ampliamente descrito en modelos de abstinencia a drogas de abuso y en modelos de restricción alimentaria (Carr, 2020; Italia et al., 2025; Ouyang et al., 2017; Wolf, 2016). Por ejemplo, la auto exposición a consumo de cocaína en ratones y ratas induce un rápido aumento en la liberación de dopamina desde el VTA hacia el nAc medido por microdiálisis (Luscher & Janak, 2021). Esto induce una rápida potenciación de las MSNs y un aumento masivo de inserción de AMPARs en la membrana postsináptica accumbal (Conrad et al., 2008; Luscher & Janak, 2021). Luego de retirar el acceso a cocaína, se produce un periodo de abstinencia en donde la liberación de dopamina disminuye progresivamente en el nAc, produciéndose un aumento compensatorio de la excitabilidad accumbal mediante el incremento de CP-AMPARs selectivamente en D1+ MSNs, produciendo una disminución de la LTD mediada por mGluR1/5 (McCutcheon et al., 2011; Scheyer et al., 2018; Wong et al., 2022), potenciando la vía directa de la recompensa y facilitando la conducta motivada por la búsqueda del estímulo recompensante, acompañado de un aumento en las conductas ansiosas y compulsivas (Turner et al., 2018; Wolf & Tseng, 2012).

Aunque el rol de los CP-AMPARs ha sido estudiado en el contexto de la adicción y la ingesta hedónica, **su participación en las alteraciones sinápticas tempranas asociadas a la EA en el nAc permanece ampliamente desconocida**. Por otro lado, diversos estudios han reportado que, durante etapas tempranas de la enfermedad, la presencia de A β puede inducir estados de hiperexcitabilidad neuronal y actividad

epileptiforme tanto en modelos animales, como en pacientes con EA (Alcantara-Gonzalez et al., 2025; Devinsky, 2026; Riffo-Lepe et al., 2025; Vossel et al., 2026; Vossel et al., 2017), mientras que en etapas avanzadas predomina una disminución de la actividad neuronal asociada a pérdida sináptica y degeneración neuronal (Blomeke et al., 2024; Selkoe & Hardy, 2016; Sha et al., 2023). Estos hallazgos sugieren que la patología de A β podría inducir inicialmente un estado de hiperactividad compensatoria en circuitos neuronales específicos antes de la aparición de la degeneración sináptica generalizada (Riffo-Lepe et al., 2025). Sin embargo, aún se desconoce si la acumulación intraneuronal de A β que ocurre durante etapas tempranas de la enfermedad puede inducir alteraciones sinápticas célula-específicas en circuitos mesolímbicos como el nAc. **En este contexto, dos preguntas permanecen abiertas: primero, si la plasticidad sináptica mediada por AMPARs en el nAc se ve alterada durante etapas tempranas pre-placa de la EA en asociación con acumulación intraneuronal de A β ; y segundo, si existe una vulnerabilidad diferencial entre subtipos neuronales del nAc frente a los efectos de esta acumulación.**

En el presente estudio evaluamos cómo la acumulación intraneuronal de A β se relaciona con alteraciones selectivas en la transmisión y plasticidad sináptica en D1+ MSNs del nAc, promoviendo un estado de hiperexcitabilidad sináptica durante etapas tempranas de la patología en modelos murinos transgénicos APP/PS1.

2. PROBLEMA

A pesar de que evidencia clínica y experimental indica que los síntomas neuropsiquiátricos preceden al deterioro cognitivo en la enfermedad de Alzheimer, los mecanismos sinápticos moleculares tempranos que afectan a los circuitos mesolímbicos están mínimamente caracterizados. En particular, se desconoce si la acumulación intraneuronal temprana de A β altera la transmisión y plasticidad sináptica mediada por receptores AMPA en el núcleo accumbens, y si estos cambios ocurren de manera diferencial entre las dos principales subpoblaciones neuronales del nAc, D1 y D2 MSNs.

3. HIPÓTESIS

La acumulación intraneuronal de A β en etapas tempranas de la enfermedad de Alzheimer altera selectivamente la transmisión excitatoria y la plasticidad sináptica en D1+ MSNs del núcleo accumbens, asociado a cambios funcionales en los receptores excitatorios de glutamato AMPARs y mGluRs.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo General

Determinar cómo la acumulación intraneuronal de péptido β eta-amiloide en el núcleo Accumbens afecta la transmisión sináptica y excitabilidad neuronal en un modelo transgénico murino de la Enfermedad de Alzheimer familiar.

4.2 Objetivos Específicos

4.2.1 Objetivo específico 1

Analizar marcadores histopatológicos durante la progresión de la patología en el nAc de ratones transgénicos APP/PS1 y fluorescentes APP/PS1^{D1Tom}.

4.2.2 Objetivo específico 2

Caracterizar alteraciones en la excitabilidad neuronal, la transmisión sináptica excitatoria y la plasticidad sináptica de las MSNs, evaluando cambios pre y postsinápticos en el nAc de ratones APP/PS1 durante la progresión de la patología.

4.2.3 Objetivo específico 3

Evaluar la contribución de la señalización dopaminérgica y los CP-AMPARs sobre la transmisión sináptica excitatoria y la depresión a largo plazo de las D1+ y D1- MSNs del nAc de ratones fluorescentes WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom}.

4.2.4 Objetivo específico 4

Evaluar causalidad entre la presencia intraneuronal de A β y cambios selectivos de la excitabilidad y transmisión sináptica excitatoria en D1+ MSNs mediante un modelo agudo de exposición a A β intraneuronal.

5. METODOLOGÍA

5.1 Animales

Todos los procedimientos experimentales fueron aprobados por el Comité Institucional de Cuidado y Uso de Animales de la Universidad de Concepción y se realizaron de acuerdo con las normativas nacionales e internacionales para el cuidado y uso de animales de laboratorio. Se utilizaron ratones macho C57BL/6J, ratones doble transgénicos APP^{swe}/PS1^{dE9} (MMRRC:034832; B6.Cg-Tg(APP^{swe},PSEN1^{dE9})-85Dbo/Mmjax) y ratones reporteros Drd1a-tdTomato (B6.Cg-Tg(Drd1a-tdTomato)-6Calak/J; JAX stock #016204), los cuales fueron obtenidos desde The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, EE. UU.) y mantenidos en el Centro Regional de Estudios Avanzados en Ciencias de la Vida (CREAV), Universidad de Concepción.

La línea transgénica APP/PS1 expresa la mutación sueca (K594M/N595L) en la proteína precursora de amiloide (APP) y la variante humana de presenilina-1 sin el exón 9 (PS1-dE9), lo que conduce a un aumento en la producción de A β (Blanchard et al., 2003). Por su parte, los ratones Drd1a-tdTomato expresan la proteína fluorescente tdTomato bajo el control del promotor del receptor dopaminérgico D1 (Drd1a), permitiendo la visualización selectiva de neuronas espinosas medianas que expresan D1R (Shuen et al., 2008).

Para generar cohortes experimentales que permitieran realizar registros en D1+ MSNs génicamente identificadas, se realizó una cruce entre una ratona hembra WT^{D1Tom} y un macho APP/PS1 para obtener descendencia APP/PS1^{D1Tom}; los compañeros de jaula WT^{D1Tom} se seleccionaron como controles para estos experimentos (Fig. 1A). El genotipado se realizó siguiendo las instrucciones proporcionadas por el proveedor para cada línea. Los animales se mantuvieron en grupos de 2 a 5 individuos bajo un ciclo de

luz/oscuridad de 12 h, con acceso *ad libitum* a alimento y agua. Los experimentos se realizaron en animales de entre 3 y 12 meses de edad. La eutanasia se llevó a cabo mediante decapitación, posterior a anestesia con isoflurano por inhalación.

5.2 Inmunohistoquímica

Se prepararon cortes coronales de cerebro (30 μm) para análisis por inmunohistoquímica. Los animales fueron anestesiados con ketamina (100 mg/kg, i.p.) y xilazina (10 mg/kg, i.p.), y perfundidos intracardiamente con solución salina precalentada (0,9% NaCl, 35 °C), seguida de paraformaldehído (PFA) al 4% recién preparado y enfriado en hielo. Los cerebros fueron disecados, fijados posteriormente durante 24 h a 4 °C y crioprotectados en sacarosa al 30% durante 3–5 días a 4 °C. Posteriormente, las muestras se embebieron en NEG50, se enfriaron a –20 °C durante 2–4 h y se almacenaron a –80 °C por al menos 24 h antes del corte en criostato.

Los cortes coronales libres se lavaron en tampón Tris-fosfato, se permeabilizaron en tampón Tris-fosfato que contenía 1% de BSA y 0,2% de Triton X-100, y se incubaron durante 24 h a 4 °C con los siguientes anticuerpos primarios: MOA β -2 (1:200, ratón, Novus Biologicals, EE. UU.), MAP2 (1:200, cobayo, Synaptic Systems, Alemania) e Iba1 (1:1000, conejo, Alomone Labs, Alemania). Posteriormente, los cortes se incubaron durante 2 h con anticuerpos secundarios conjugados a fluoróforos (Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 594 y Alexa Fluor 647).

Las muestras teñidas se montaron en portaobjetos de vidrio utilizando medio de montaje fluorescente DAKO y se adquirieron imágenes mediante microscopía confocal (Centro de Microscopía Avanzada, CMA, Biobío). Para cada animal se analizaron al menos dos cortes coronales, considerando tres regiones de interés (ROI) distintas por corte. Cada

ROI se adquirió de forma consistente como un Z-stack (~20 μm), el cual fue posteriormente procesado y cuantificado utilizando los programas ImageJ y Zen.

5.3 Tinción con Tioflavina-S

La Tioflavina-S (Sigma, T1892), que se une a estructuras ricas en láminas β presentes en agregados amiloides, se utilizó para evaluar la deposición extracelular de placas amiloides. Se emplearon secciones coronales de cerebro (35 μm) que contenían el núcleo Accumbens y la corteza, las cuales fueron montadas en portaobjetos y procesadas a temperatura ambiente (~22 °C). Los cortes se deshidrataron mediante una serie creciente de etanol (50%, 70%, 80%, 90%, 95% y 100%; 5 min cada una), se incubaron en xileno (Winkler, XI-1670) durante 10 min y posteriormente se rehidrataron mediante concentraciones decrecientes de etanol (100%, 95%, 90%, 80% y 70%; 5 min cada una). La solución de Tioflavina-S (0,05% en etanol al 50%) se preparó fresca para cada experimento y se filtró antes de su uso. Las secciones se incubaron durante 10 min protegidas de la luz, seguidas de lavados en etanol al 70% (3 min) y agua destilada (2 min). Finalmente, las muestras se cubrieron con cubreobjetos y se almacenaron protegidas de la luz hasta su adquisición.

Las imágenes se obtuvieron mediante microscopía confocal utilizando parámetros de adquisición idénticos para todos los genotipos y regiones cerebrales. Para cada animal se analizaron cinco secciones, muestreadas cada 100 μm , incluyendo cuatro animales por grupo experimental. El fondo de autofluorescencia se estimó a partir de las muestras preparadas como control negativo sin incubación con Tioflavina-S y se sustrajo de todas las imágenes. Los puntos fluorescentes con un tamaño mayor a 5 μm se consideraron placas amiloides. La ausencia de señal detectable de Tioflavina-S se interpretó como

ausencia de deposición de placas. El análisis se realizó de manera ciega respecto al genotipo.

5.4 Preparación de agregados enriquecidos en oligómeros de A β

El péptido sintético humano A β 42 (1 mg) (Genemed Synthesis, USA) se resuspendió en 220 μ L de hexafluoroisopropanol (HFIP) y se incubó durante 1 h a temperatura ambiente (20–25 °C) hasta obtener una solución transparente. Las muestras se sonicaron durante 2 min para asegurar una solubilización completa. La solución se alicuotó en volúmenes de 10 μ L en tubos Eppendorf de 0,5 mL (\approx 0,045 mg de péptido por tubo) y se dejaron abiertos en una campana de extracción química para permitir la evaporación del HFIP durante 2–4 h (máximo 24 h). Las películas secas de péptido se almacenaron en presencia de desecante a –20 °C hasta su uso.

Para la preparación de oligómeros, las películas de péptido se mantuvieron a temperatura ambiente y se resuspendieron en 2 μ L de DMSO para obtener una solución stock de 5 mM. Las muestras se pipetearon cuidadosamente para asegurar la completa solubilización, se vortexaron durante 15 s y se sonicaron durante 10 min en un baño ultrasónico. Posteriormente, se añadieron 98 μ L de agua desionizada para alcanzar una concentración final de 100 μ M de A β . Las soluciones se incubaron a 4 °C durante 24 h para favorecer la formación de oligómeros (la incubación 0 h corresponde a preparaciones predominantemente monoméricas).

Para la aplicación intracelular durante los registros de patch-clamp, se preparó una solución de trabajo de 1 μ M diluyendo 2 μ L del stock de A β a 100 μ M en 198 μ L de solución interna de registro, obteniendo así una concentración final de 1 μ M.

5.5 Registros electrofisiológicos en rebanadas coronales de cerebro

Se prepararon rebanadas coronales agudas de cerebro que contenían el núcleo accumbens a partir de ratones macho anestesiados con isoflurano y sacrificados por decapitación. Los cerebros se extrajeron rápidamente y se transfirieron a una solución de corte fría y oxigenada que contenía (en mM): 194 sacarosa, 30 NaCl, 4,5 KCl, 1,2 NaH₂PO₄·H₂O, 1 MgCl₂·6H₂O, 26 NaHCO₃ y 10 glucosa (pH 7,4, equilibrada con 95% O₂ / 5% CO₂). Se obtuvieron rebanadas coronales de 300 µm utilizando un vibrátomo (VT1200, Leica, Alemania) y se dejaron recuperar durante 1 h a 32 °C en líquido cefalorraquídeo artificial (aCSF) que contenía (en mM): 124 NaCl, 26 NaHCO₃, 10 glucosa, 4,5 KCl, 2 CaCl₂·2H₂O, 1 MgCl₂·6H₂O y 1,2 NaH₂PO₄·H₂O, continuamente burbujeado con 95% O₂ / 5% CO₂.

Los registros patch-clamp en configuración *whole-cell* se realizaron en el núcleo accumbens, región core, utilizando un amplificador Axopatch 200B acoplado a un digitalizador Digidata 1440A y el software pClamp 10 (Axon Instruments). Las pipetas de registro (4–5 MΩ) se fabricaron a partir de capilares de vidrio borosilicatado (WPI) utilizando un estirador horizontal (P-1000, Sutter Instruments). Durante los registros, las rebanadas se perfundieron continuamente con aCSF oxigenado y se mantuvieron a 32 °C. Las señales eléctricas se filtraron con un filtro pasa-bajo a 2 kHz y se digitalizaron a 10 kHz. La resistencia en serie se monitoreó de forma continua y se compensó parcialmente (60–70%) durante los registros; las células se excluyeron si la resistencia en serie variaba en más de un 20%.

5.6 Registros en configuración voltage-clamp

Para los experimentos en *voltage clamp* (voltaje fijo), la solución interna de la pipeta contenía (en mM): 120 CsCl, 10 HEPES, 4 MgCl₂·6H₂O, 2 Mg-ATP, 0,5 Na₂-GTP y 10 BAPTA (tetra-Cs) (pH 7,4, ajustado con CsOH; 290 mOsm), junto con QX-314 (1 mM) y

TEA-Cl (5 mM). Para los experimentos de índice de rectificación, se incluyó adicionalmente espermina (100 μ M) al interior de la pipeta de registro. En los experimentos de LTD inducida por DHPG, se utilizó EGTA (1 mM) en reemplazo de BAPTA. Las soluciones de baño se perfundieron de manera continua a una velocidad de 1 mL/min.

5.7 Registros en configuración current-clamp

Se utilizó solución externa normal ACSF y solución intracelular basada en gluconato de potasio (KGlu), que contiene (en mM): 114 Gluconato de potasio, 4 KCl, 4 MgCl₂, 10 BAPTA y 10 HEPES (pH 7.4 ajustado con KOH, 290 mOsm/L). A todas las neuronas registradas se les determinó la conductancia (C_m), la resistencia de membrana (R_m), la resistencia de acceso (R_a) y la constante de decaimiento Tau (τ). Las neuronas con R_a > 20 M Ω fueron descartadas. Posterior a la estabilización de 5 – 10 minutos luego de la generación de un sello de célula completa, se registra el potencial de membrana en reposo (RMP) con I_h = 0 por 5 minutos, permitiendo el análisis de propiedades pasivas. Luego, para evocar potenciales de acción (APs), se utilizó una familia de pulsos de corriente aplicados durante 200 ms (pulsos desde -200 pA a +300 pA, incrementando gradualmente la corriente en 50 pA entre cada uno), obteniendo una curva corriente / voltaje para el análisis de las propiedades activas de la membrana de las MSNs mediante parámetros del primer potencial de acción (AP) evocado, como la frecuencia, amplitud, umbral, duración, la R_a, y la reobase. Estos parámetros se obtienen utilizando el software Clampfit 11.4 para analizar los registros.

5.8 Estimulación sináptica y respuestas evocadas

Las corrientes postsinápticas excitatorias evocadas (eEPSCs) se obtuvieron utilizando un electrodo bipolar de tungsteno (World Precision Instruments) posicionado

aproximadamente a 100 μm de la neurona registrada y conectado a un estimulador de pulsos aislado (A-M Systems). Se aplicaron pulsos de corriente cuadrados (1 ms, 0,05–0,5 mA) para evocar respuestas estables con amplitudes ≤ 200 pA. La intensidad de estimulación se ajustó únicamente al inicio de cada registro para obtener una respuesta estable y no se modificó posteriormente. Los registros de línea base se iniciaron solo después de alcanzar eEPSCs estables que variaran en no más del 30% durante un período superior a 1 min (correspondiente a al menos tres puntos consecutivos, entregados cada 20 s).

5.9 Razón AMPA/NMDA

Los componentes mediados por receptores AMPA y NMDA se midieron a partir de eEPSCs registrados en presencia de PTX (100 μM). Las respuestas mediadas por AMPARs se obtuvieron a un potencial de membrana de -60 mV. Posteriormente, se desplazó a $+40$ mV para registrar respuestas mixtas AMPA+NMDA (30 puntos, uno cada 20 s). A continuación, se aplicó D-AP5 (50 μM) para aislar el componente mediado por AMPARs a $+40$ mV. El componente NMDA se calculó mediante la sustracción del trazo promedio AMPAR de la respuesta mixta, y su amplitud se midió 20 ms después del pico de la corriente AMPAR. La razón AMPA/NMDA se calculó como el cociente entre la corriente pico AMPAR y la amplitud de la corriente NMDA.

5.10 Razón de pulso pareado (PPR)

La razón de pulso pareado (PPR) se evaluó a un potencial de membrana de -60 mV mediante la aplicación de dos estímulos consecutivos separados por un intervalo inter-estímulo de 70 ms. La PPR se calculó como el cociente entre la amplitud del segundo y del primer eEPSC ($R2/R1$), utilizando respuestas con amplitudes ≤ 200 pA.

5.11 Índice de rectificación (IR)

Las propiedades de rectificación de las corrientes mediadas por AMPARs se evaluaron utilizando una solución interna basada en CsCl que contenía espermina (100 μ M), en presencia de PTX (100 μ M) y D-AP5 (50 μ M). Los eEPSCs se registraron a potenciales de membrana entre -60 y +40 mV, en incrementos de 20 mV. Para cada potencial se adquirieron y promediaron 30 puntos. El índice de rectificación se calculó como el cociente entre el valor absoluto de la amplitud de corriente a +40 mV y aquella registrada a -60 mV.

5.12 Sensibilidad a NASPM

Para evaluar la contribución funcional de los AMPARs calcio-permeables, las MSNs se mantuvieron en voltage-clamp a -60 mV. Tras establecer una línea base estable durante al menos 10 min (un estímulo cada 20 s), se aplicó NASPM (150 μ M) por baño durante un mínimo de 15 min. La inhibición se expresó como el porcentaje de reducción de la amplitud media de los eEPSCs, comparando las respuestas basales con aquellas registradas durante los últimos 5 min de aplicación de NASPM.

5.13 Depresión a largo plazo (LTD)

Todos los experimentos de LTD se realizaron en presencia de PTX (100 μ M) y D-AP5 (50 μ M). Para la LTD inducida por estimulación de alta frecuencia (HFS-LTD), los registros se realizaron utilizando solución interna basada en CsCl. Tras obtener una línea base estable durante al menos 10 min, la LTD se indujo mediante cuatro trenes de estímulos a 100 Hz (pulsos de 1 ms), separados por intervalos de 20 s. Los eEPSCs se registraron durante al menos 40 min posteriores a la inducción. La magnitud de la LTD se calculó como el cambio porcentual de la amplitud normalizada de los eEPSCs durante los últimos 5 min en relación con la línea base.

Para la LTD dependiente de mGluR1/5, los registros se realizaron utilizando solución interna que contenía EGTA (1 mM). Tras una línea base estable de 10 min, se aplicó (RS)-3,5-dihidroxifenilglicina (DHPG, 50 μ M) por baño durante 5 min, y los eEPSCs se monitorizaron durante al menos 25 min adicionales. La magnitud de la LTD se expresó como el porcentaje de reducción de la amplitud media de los eEPSCs durante los últimos 5 min respecto de la línea base.

5.14 Inyecciones estereotáxicas

Se utilizaron ratones macho WT y APP/PS1 de cinco meses de edad. Se realizaron cirugías estereotáxicas para la administración de virus adenoasociados (AAVs) que expresan el indicador genéticamente codificado de calcio GCaMP6s bajo el promotor sinapsina, descrito previamente (Armijo-Weingart et al. 2024). Se inyectaron bilateralmente en el núcleo accumbens (nAc) 200 nL de AAV1-Syn-GCaMP6s.WPRE.SV40 ($1,76 \times 10^{13}$ GC/ml; Addgene #100843-AAV1) utilizando un sistema de alineación estereotáxica (Kopf Instruments). Las coordenadas relativas a bregma fueron: AP +0,13 mm, ML \pm 0,11 mm y DV -0,4 mm (Allen Brain Atlas). Los animales fueron anestesiados con isoflurano/oxígeno al 4% para la inducción y mantenidos con 2–3% durante la cirugía. Tras nivelar el cráneo, se realizó una craneotomía y una jeringa Hamilton Neuros de 1 μ L se descendió lentamente hasta la profundidad deseada. La solución viral se inyectó y la jeringa se mantuvo en posición durante 1 min antes de su retiro. Las incisiones se cerraron con adhesivo Leukosan.

5.15 Fotometría de calcio

Dos a tres semanas después de la inyección de AAV, los animales de seis meses de edad ya están completamente recuperados. Se prepararon rebanadas coronales (300 μ m) que

contenían el nAc para experimentos de imagen de calcio. Las rebanadas se transfirieron a un microscopio vertical y se perfundieron continuamente con aCSF oxigenado (1 mL/min). La región de interés (medial a la comisura anterior, correspondiente al núcleo accumbens core) se visualizó mediante fluorescencia para confirmar la expresión de GCaMP6s. Se ubicó un electrodo bipolar de estimulación sobre la superficie de la rebanada, y la estimulación consistió en pulsos eléctricos únicos (400–800 μ A, 1 ms, 10 Hz). Los transientes fluorescentes se midieron mediante fotometría en rebanadas utilizando un fotómetro Horiba PTI D-104 con un fotomultiplicador de 710 nm montado en un microscopio Olympus BX51. Las señales se adquirieron con Patch-Master y se expresaron como $\Delta F/F_0$. La estimulación se aplicó cada 2 min, generando un transiente por estímulo. Se registró una línea base estable de 12 min, seguida de la aplicación del antagonista de AMPARs CNQX durante otros 12 min. Los datos se normalizaron a la línea base y se expresaron como porcentaje de cambio. El efecto farmacológico se cuantificó comparando la respuesta media de los últimos 6 min con la línea base para cada rebanada. Los datos corresponden a rebanadas obtenidas de al menos tres animales por grupo, y el análisis se realizó a ciegas.

5.16 Western blot

El nAc se micro diseccionó a partir de rebanadas coronales de ratones macho WT y APP/PS1 de seis meses. El tejido se homogeneizó en buffer RIPA con inhibidores de proteasas y fosfatasa, y la concentración proteica se determinó mediante ensayo BCA. Cantidades iguales de proteína (50 μ g) se separaron por SDS-PAGE y se transfirieron a membranas PVDF. Las membranas se bloquearon con leche descremada al 5% e incubaron durante la noche a 4 °C con anticuerpos primarios contra SV2, PSD95, GluA1, GluA2 y G β (control de carga). Tras incubación con anticuerpos secundarios conjugados

a HRP, las proteínas se visualizaron mediante quimioluminiscencia. Las intensidades de banda se cuantificaron en FIJI, se normalizaron a G β y se expresaron relativas a controles WT.

5.17 qRT-PCR

El nAc se microdisecionó de rebanadas coronales de 300 μ m. El ARN total se extrajo utilizando TRIzol y se trató con DNasa. Se sintetizó ADNc a partir de 2 μ g de ARN total. La qPCR se realizó durante 40 ciclos utilizando SYBR Green y partidores específicos para subunidades de receptores AMPA y NMDA. La ciclofilina A se utilizó como gen de referencia. Los niveles de expresión se calcularon mediante el método $\Delta\Delta$ Ct y se expresaron como cambios relativos respecto a WT.

5.18 Diseño experimental y análisis estadístico

El número de células y animales analizados en cada experimento se indica en los pies de Fig. correspondientes. Los animales fueron seleccionados aleatoriamente para los registros sin conocimiento previo de su genotipo WT o APP/PS1; únicamente la fluorescencia tdTomato se utilizó para identificar neuronas D1R+ cuando correspondía. La adquisición y el análisis de los datos se realizaron a ciegas respecto del genotipo. Los datos electrofisiológicos se analizaron con Clampfit v11. La detección de eventos sinápticos se realizó mediante búsqueda por plantilla. Los datos se organizaron en Excel y se analizaron en GraphPad Prism 10. La normalidad se evaluó con la prueba de Shapiro–Wilk. Se utilizaron pruebas t de Student, t de Welch o Mann–Whitney según correspondiera. Para análisis longitudinales se emplearon modelos de efectos mixtos con estimación REML. Las comparaciones post hoc se realizaron con pruebas de Sidak o Tukey. Los datos se presentan como media \pm error estándar (SEM), y se consideró

significancia estadística a valores $p < 0,05$. Los valores exactos y tamaños muestrales se indican en los pies de Fig. correspondientes.

6. RESULTADOS

6.1 Objetivo específico 1: Analizar marcadores histopatológicos durante la progresión de la patología en el nAc de ratones transgénicos APP/PS1 y fluorescentes APP/PS1^{D1Tom}

6.1.1 Cuantificar niveles de A β intraneuronal en las MSNs accumbales de ratones WT y APP/PS1 mediante inmunohistoquímica y microscopia confocal, distinguiendo entre D1+ y D1– MSNs

Actualmente se reconoce que A β intraneuronal constituye un evento temprano en la progresión de la EA. Datos publicados por nuestro laboratorio mostraron acumulación intraneuronal de A β en las MSNs del nAc de ratones APP/PS1 de 6 meses de edad (Fernández-Pérez et al., 2020), sin embargo, se desconoce si a edades aún más tempranas, como 3 meses de edad, existen ya diferencias en la acumulación de A β en las neuronas. Además, tampoco se distinguió entre los tipos neuronales principales del nAc, esto es, D1+ MSNs y D1– MSNs (putativamente MSNs D2R).

Para resolver estos vacíos, primero se realizó inmunohistoquímica en secciones coronales de ratones WT y APP/PS1 a los 3 meses de edad, utilizando el anticuerpo MoA β 2, el cual reconoce la región N-terminal de A β sin presentar reactividad cruzada con APP (Youmans et al., 2012). La señal de A β intraneuronal se detectó en los somas neuronales, y no se observaron placas extracelulares, en concordancia con nuestros datos previos a los 6 meses (Fernández-Pérez et al., 2020). El análisis cuantitativo reveló niveles significativamente mayores de A β intraneuronal en las MSNs del nAc de ratones APP/PS1 en comparación con los WT, lo que indica una acumulación temprana de A β al

interior de los somas de las neuronas del núcleo accumbens ya desde los 3 meses de edad (Fig. 6A, B).

Para evaluar si la acumulación intraneuronal de A β difiere entre subtipos de MSNs durante etapas tempranas de la patología, analizamos ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses de edad. Tal como se ha reportado previamente para los ratones APP/PS1, los ratones APP/PS1^{D1Tom} presentaron una señal robusta de A β intraneuronal restringida a los somas de las MSNs en el nAc, sin identificación de placas amiloides (Fig. 6C). El análisis cuantitativo mostró niveles significativamente mayores de intensidad de A β tanto en D1+ MSNs como en D1- MSNs en ratones APP/PS1^{D1Tom} en comparación con el control (Fig. 6D), sugiriendo que ambos tipos de MSNs podrían ser vulnerables a los efectos moduladores de la acumulación de A β sobre la fisiología sináptica neuronal.

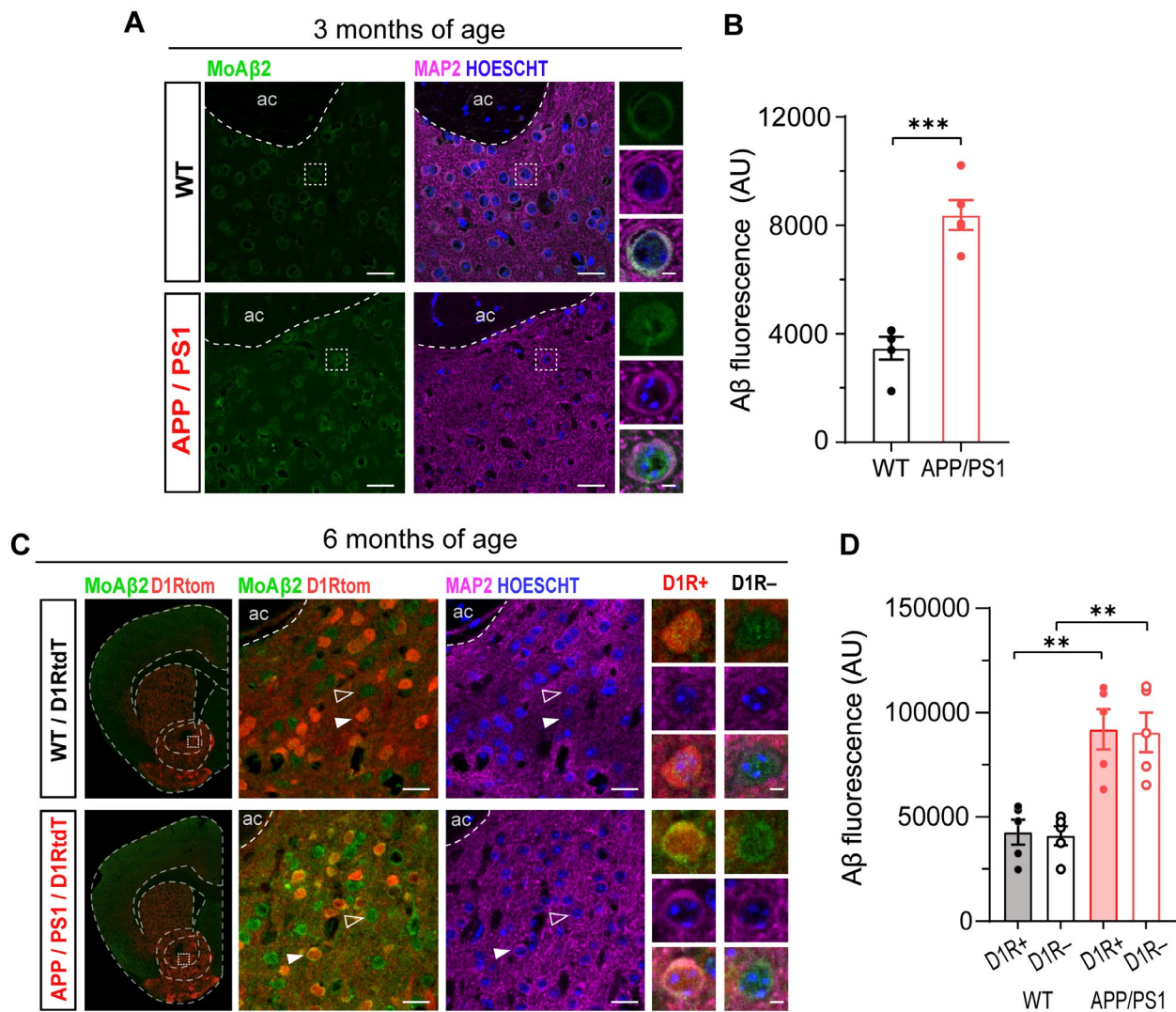


Figura 6: A β se acumula intraneuralmente en D1+ y D1- MSN del nAc de ratones APP/PS1 durante etapas pre-placa.

(A) Imágenes representativas de inmunohistoquímica en cortes coronales de nAc de 30 μ m desde cerebros de ratones WT y APP/PS1, usando anticuerpos primarios contra A β (MOA β -2), la proteína asociada a microtúbulos (MAP2) y núcleos (Hoesch). Las neuronas del animal APP/PS1 muestra inmunoreactividad para A β intracelular. A la derecha se encuentran los paneles magnificados (recuadros punteados) que destacan la señal intracelular dentro de somas neuronales individuales. (B) Cuantificación de la intensidad

de fluorescencia de MOA β -2 bajo una máscara de MAP2 muestra niveles significativamente mayores de A β intracelular en ratones APP/PS1 en comparación con WT (t de Student no pareado de dos colas, $t(8)=7.111$, $***p<0.001$). Cada punto representa el valor promedio por animal (WT n = 5; APP/PS1 n = 5). Se analizaron un total de 20 neuronas por animal. (C) Inmunohistoquímica en cortes de nAc de ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses de edad marcados con MOA β -2, Tomato (D1+), MAP2 y Hoechst. Los paneles izquierdos muestran imágenes tipo tile-scan; los paneles centrales presentan campos ampliados (recuadros punteados). Las puntas de flecha blancas rellenas indican D1+ MSNs (tdTomato+), mientras que las puntas de flecha blancas abiertas indican D1- MSNs (tdTomato-). Los paneles derechos muestran ampliaciones a nivel de célula individual correspondientes a cada subtipo de MSN. (D) Cuantificación de la intensidad de A β intracelular en somas de D1+ D1- MSNs en ratones de 6 meses de edad. Los ratones APP/PS1^{D1Tom} presentan niveles significativamente elevados de A β en ambos subtipos de MSN en comparación con WT^{D1Tom} (ANOVA de una vía seguido de prueba de Tukey: WT D1+ MSNs vs APP/PS1 D1+ MSNs, $p=0.002$; WT D1- MSNs vs APP/PS1 D1- MSNs, $**p=0.002$). Cada punto representa el valor promedio por animal (n = 5 por genotipo). Se analizaron un total de WT: 50 células D1R+ y 47 D1R-; APP/PS1: 40 células D1R+ y 45 D1R-. Barras de escala: 20 μ m; ampliaciones: 5 μ m.

6.1.2 Determinar la presencia de placas extracelulares de A β mediante tinción de Tioflavina-S en el nAc y corteza de ratones WT y APP/PS1 a 6 y 12 meses de edad

Posteriormente, se evaluó la presencia de placas extracelulares de A β usando la tinción de Tioflavina-S en secciones coronales de ratón WT y APP/PS1 de 6 y 12 meses de edad.

No se detectaron placas amiloides en el nAc de 6 meses de edad, mientras que a 12 meses de edad se observó una escasa presencia de agregados extracelulares. En contraste, en la corteza cerebral se observaron abundantes placas amiloides en el nAc de ratones APP/PS1 a 6 y 12 meses de edad (Fig. 7A, B). Estos resultados sugieren que en el nAc la patología amiloide es predominantemente intraneuronal en los estadios iniciales de la patología.

6.1.3 Analizar la población microglial en el nAc de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad mediante inmunohistoquímica

Para evaluar los efectos de la acumulación intraneuronal de A β sobre la subpoblación microglial, realizamos inmunohistoquímica contra la proteína Iba1 en el nAc de ratones WT y APP/PS1. De acuerdo con lo esperado, el análisis cuantitativo reveló un número comparable de células microgliales Iba1+ y no hubo cambios significativos en la intensidad de fluorescencia asociada a Iba1 entre los genotipos (Fig. 7C, D), sugiriendo que activación microglial no ocurre en el nAc durante etapas tempranas de la EA.

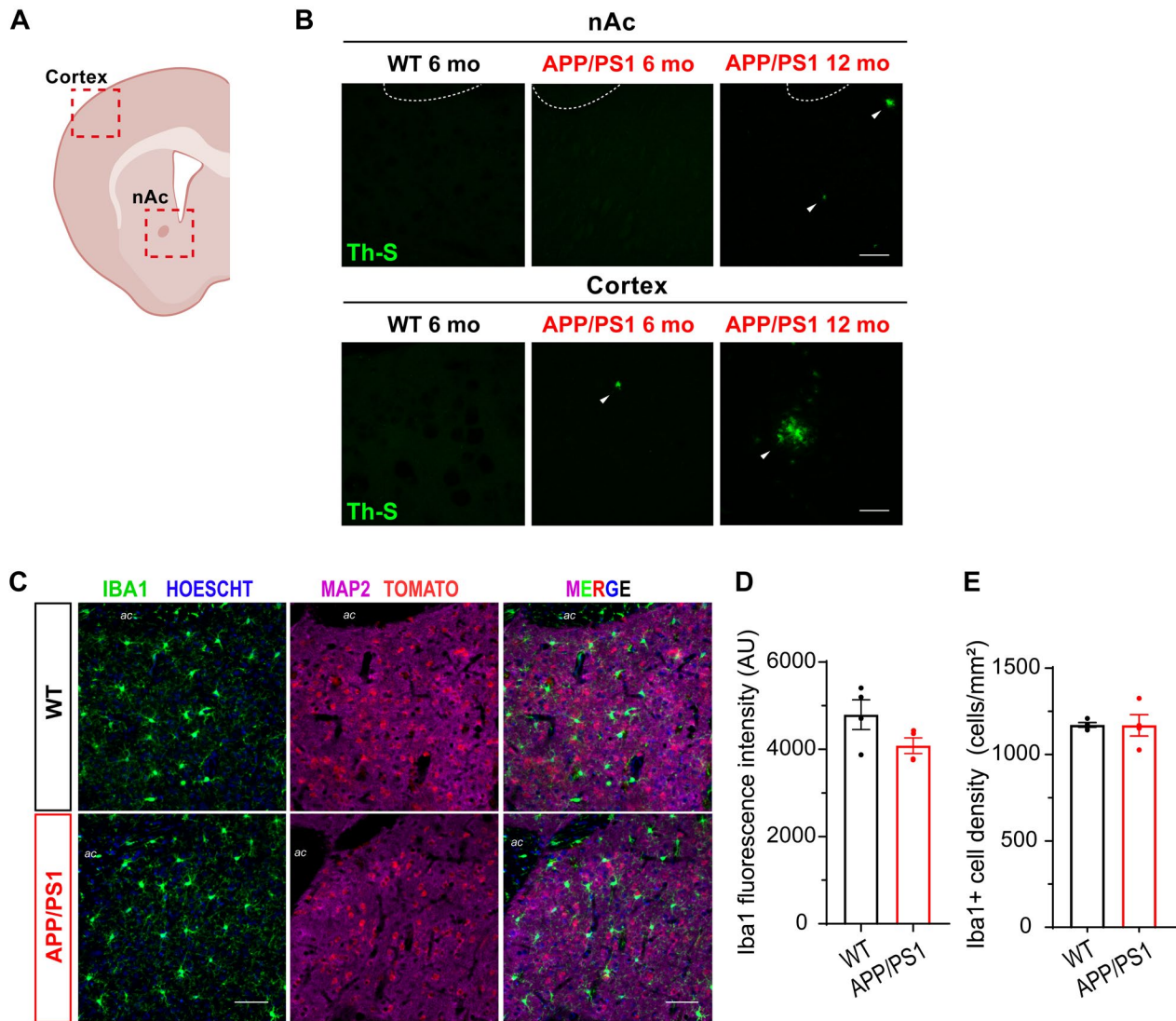


Figura 7: Tinción con Tioflavina-S y análisis microglial en el nAc y la corteza de ratones APP/PS1 durante etapas pre-placa

(A) Esquema que indica la localización aproximada de las regiones coronales analizadas en la corteza y el nAc. (B) Tinción representativa con Th-S en cortes coronales de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad. No se detectó señal positiva para Th-S en el nAc a los 6 meses en ninguno de los genotipos. A los 12 meses, los ratones APP/PS1 presentaron placas positivas para Th-S en el nAc y la corteza (puntas de flecha blancas). Barras de escala: 50 μ m. (C) Inmunohistoquímica representativa en cortes de nAc de

ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses de edad. Los paneles izquierdos muestran Iba1 y Hoechst; los paneles centrales muestran MAP2 y tdTomato; los paneles derechos presentan los canales fusionados. Las imágenes corresponden a aumentos de 25X. Barra de escala: 50 μm . (D) Cuantificación de la intensidad de fluorescencia de Iba1 en el nAc. Cada punto representa una imagen de proyección de suma individual (z-stack de 30 μm ; campo de 581 \times 581 μm) obtenida a partir de al menos 2–3 cortes por ratón. Se analizaron cuatro animales por genotipo. Prueba t de Student no pareada de dos colas (ns). (E) Cuantificación de la densidad de células Iba1+ (células/ mm^2). Cada punto representa el número promedio de células Iba1+ en el nAc por animal, calculado a partir de múltiples regiones de interés (4 ROIs por imagen; 6 imágenes provenientes de ≥ 3 cortes por animal). No se detectaron diferencias significativas entre genotipos (t de Welch, $t(3.293)=0.0478$, $P=0.9646$). WT n=4 animales; APP/PS1 n=4 animales.

6.2 Objetivo específico 2: Caracterizar alteraciones en la excitabilidad neuronal, la transmisión sináptica excitatoria y la plasticidad sináptica de las MSNs, evaluando cambios pre y postsinápticos en el nAc de ratones APP/PS1 durante la progresión de la patología.

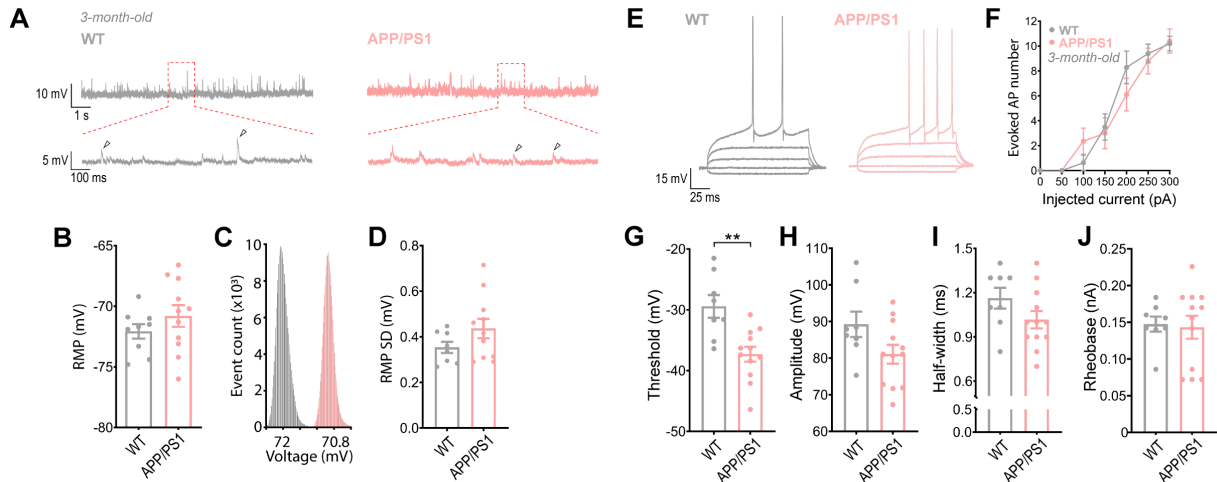
6.2.1 Caracterizar la excitabilidad neuronal en el nAc de ratones WT y APP/PS1 a 3 y 6 meses de edad mediante electrofisiología.

A pesar de que la hiperexcitabilidad de las neuronas del hipocampo y la corteza en modelos transgénicos con EA ha sido ampliamente reportada (Alcantara-Gonzalez et al., 2025; Scharfman & Myers, 2016; Targa Dias Anastacio et al., 2022), se desconoce cómo es afectada la excitabilidad accumbal durante etapas iniciales de la EA. Para evaluar las propiedades pasivas y activas de la membrana de las MSNs del nAc, se realizó electrofisiología en rebanadas de cerebro de animales WT y APP/PS1 de 3 y 6 meses de

edad, utilizando la modalidad “*current-clamp*” (corriente fija) para la medición de cambios en voltaje.

Mientras que a 3 meses de edad no se encontraron diferencias estadísticas en las propiedades pasivas de las MSNs del nAc entre genotipos (Fig. 8A-D), el umbral de disparo de potencial de acción fue significativamente reducido en las MSNs del animal APP/PS1 (Fig. 8G), sin embargo, no se encontraron cambios en otras propiedades activas de la membrana a esta edad. De manera interesante, análisis a 6 meses de edad confirmaron la alteración de la excitabilidad en las MSNs de ratones APP/PS1 (Fig. 8K-T). Mientras que el potencial de membrana en reposo (RMP) no cambió significativamente (Fig. 8L-M), el análisis del ruido del valor de voltaje fue significativamente mayor en el ratón APP/PS1 comparado con el WT (Fig. 8N), sugiriendo despolarizaciones mayores en las MSNs de ratones APP/PS1. Además, las propiedades activas de la membrana también fueron alteradas, observando un incremento significativo en el disparo de potenciales de acción (Fig. 8P) y una disminución del umbral de disparo (Fig. 8Q), la amplitud (Fig. 8R), y la reobase (Fig. 8T), sin cambios significativos en la duración del potencial de acción (Fig. 8S). Estos resultados indican una mayor excitabilidad de las MSNs del nAc de ratones APP/PS1 en etapas tempranas de la enfermedad, cuando los niveles de A β intracelular son significativamente mayores en el ratón APP/PS1 respecto al WT, y refuerza las observaciones anteriormente reportadas en neuronas disociadas del nAc de ratones APP/PS1 a 6 meses (Fernández-Pérez et al., 2020).

Análisis de excitabilidad en ratones WT y APP de 3 meses de edad.



Análisis de excitabilidad en ratones WT y APP de 6 meses de edad.

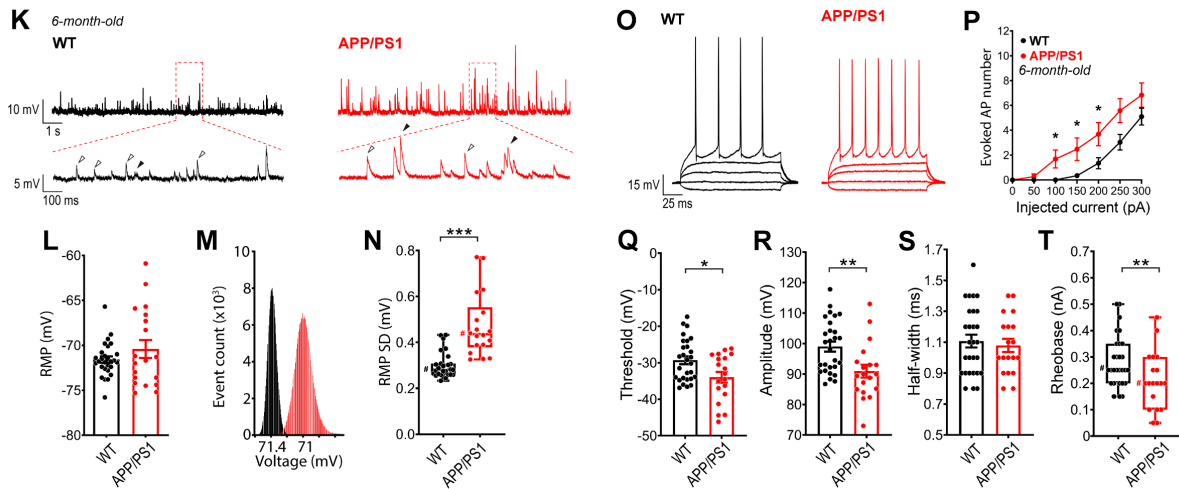


Figura 8: La excitabilidad accumbal no se altera a los 3 meses, pero aumenta significativamente a los 6 meses de edad en ratones 2xTg

(A) Registros representativos en configuración current-clamp (corriente de mantenimiento $I_h = 0$) del potencial de membrana en reposo (RMP) de MSNs en el nAc en cortes cerebrales de ratones WT de 3 meses (gris) y APP/PS1 (rojo claro). Se observaron eventos espontáneos subumbrales (punta de flecha negra). (B) Cuantificación del RMP ($t(18) = 1.120$, $p = 0.2774$). (C) Histograma de la distribución de frecuencia del RMP. (D) Cuantificación de la desviación estándar (SD) del RMP ($t(17) = 1.519$, $p = 0.1470$). Los

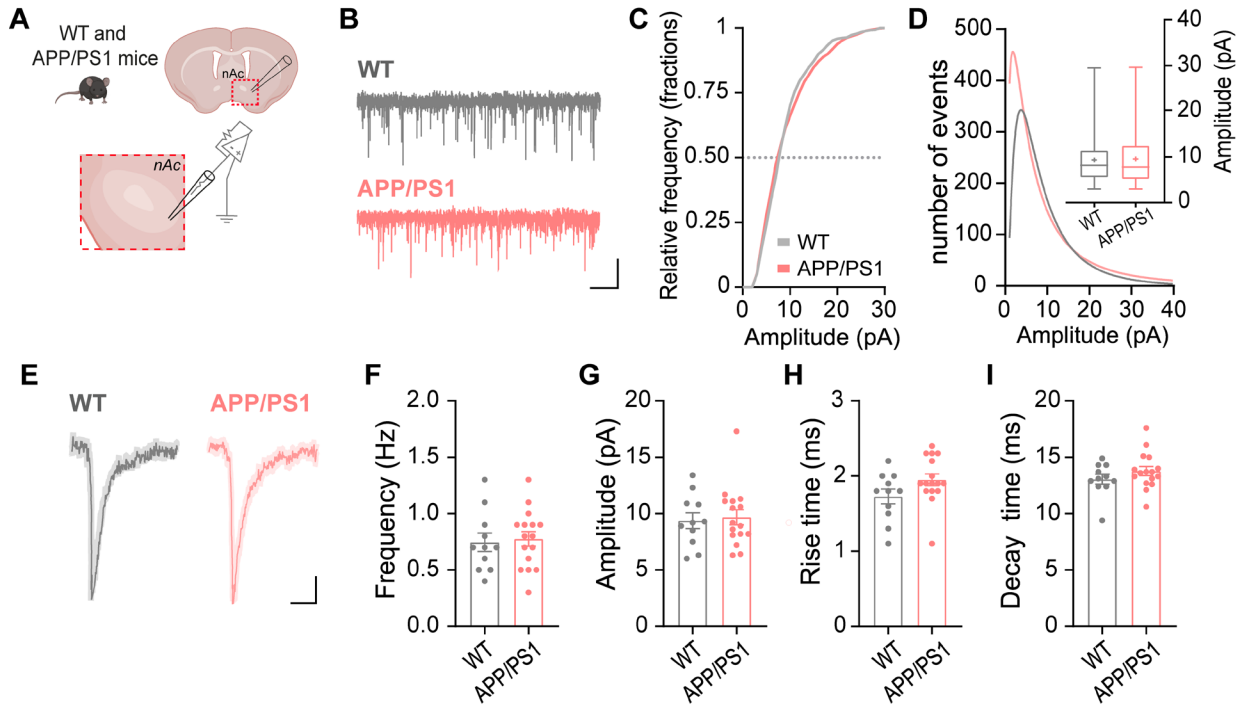
gráficos de barras muestran el valor promedio, error estándar y diagrama de dispersión de los datos. Número de neuronas: WT = 9 y APP/PS1 = 11. Número de animales: WT = 3 y APP/PS1 = 3. (E) Trazos representativos de registros en current-clamp tras la inyección de pulsos de corriente entre -50 y 300 pA ($\Delta 50$ pA) para WT (gris) y APP/PS1 (rojo claro). (F) Relación entre el número de potenciales de acción generados y la intensidad de corriente inyectada en ambas condiciones. (G) Cuantificación del umbral de potencial de acción (AP Threshold) ($t(18) = 3.667$, $p = 0.0018$). (H) Amplitud del potencial de acción ($t(18) = 1.943$, $p = 0.0678$). (I) Duración del potencial de acción ($t(18) = 1.581$, $p = 0.1314$). (J) Reobase ($t(18) = 0.2069$, $p = 0.8384$). (K) Registros representativos en current-clamp ($I_h = 0$) del RMP de MSNs en el nAc en cortes cerebrales de ratones WT de 6 meses (negro) y APP/PS1 (rojo). Se observan eventos espontáneos subumbrales (punta de flecha negra) y descargas en ráfaga (punta de flecha blanca). (L) Cuantificación del RMP (prueba de Mann–Whitney, $p = 0.6318$). (M) Histograma de la distribución de frecuencia del RMP. (N) Cuantificación de la desviación estándar (SD) del RMP (prueba de Mann–Whitney, $***p < 0.001$). Los gráficos de barras muestran el valor promedio, error estándar y diagrama de dispersión de los datos. Número de neuronas: WT = 27 y APP/PS1 = 18. Número de animales: WT = 4 y APP/PS1 = 4. (O) Trazos representativos de registros en current-clamp tras la inyección de pulsos de corriente entre -50 y 300 pA ($\Delta 50$ pA) para WT (negro) y APP/PS1 (rojo). (P) Relación entre el número de potenciales de acción generados y la intensidad de corriente inyectada en ambas condiciones. (Q) Cuantificación del umbral de potencial de acción ($t(45) = 2.600$, $p = 0.0126$). (R) Amplitud del potencial de acción ($t(45) = 3.050$, $p = 0.0038$). (S) duración del potencial de acción ($t(45) = 0.4557$, $p = 0.65$). (T) Reobase (prueba de Mann–Whitney, $p = 0.0216$). Los gráficos de dispersión representan el promedio \pm SEM.

*p < 0.05, **p < 0.01, ***p < 0.001. Número de neuronas: WT = 28 y APP/PS1 = 19.
Número de animales: WT = 4 y APP/PS1 = 4.

6.2.2 Analizar la transmisión sináptica excitatoria mediada por AMPARs en el nAc de ratones WT y APP/PS1 de 3 y 6 meses de edad mediante electrofisiología.

Para identificar la ventana patológica en la cual emergen alteraciones sinápticas, se evaluó la transmisión sináptica mediada por AMPARs en el nAc de ratones WT y APP/PS1 de 3 y 6 meses de edad. Las corrientes excitatorias espontáneas (sEPSCs) fueron aisladas utilizando picrotoxina (PTX) 0.1 mM en la solución extracelular y fueron registradas a – 60 mV utilizando la modalidad de voltaje fijo para medir cambios en corriente. Adicionalmente, como control, las corrientes aisladas fueron bloqueadas completamente con el antagonista de receptores AMPA CNQX, confirmando que las corrientes aisladas son mediadas por AMPARs. El análisis cuantitativo no arrojó diferencias entre ratones WT y APP/PS1 a los 3 meses de edad (Fig. 9A-I). Por otro lado, a los 6 meses de edad, las MSNs de ratones APP/PS1 exhibieron un aumento significativo en la amplitud de las sEPSCs (Fig. 9P), sin cambios en la frecuencia (Fig. 9O) ni en las propiedades cinéticas (Fig. 9G-I) acompañado de un desplazamiento hacia la derecha en las distribuciones acumulativas de amplitud (Fig. 9L-M). Así, pese a la presencia de acumulación intraneuronal de A β a los 3 meses de edad, las alteraciones funcionales en la transmisión sináptica emergen a los 6 meses. Adicionalmente, el incremento en amplitud sin cambios en la frecuencia de eventos sugiere mecanismos postsinápticos más que cambios en la liberación presináptica de glutamato.

3-months-old AMPAR-mediated synaptic transmission



6-months-old AMPAR-mediated synaptic transmission

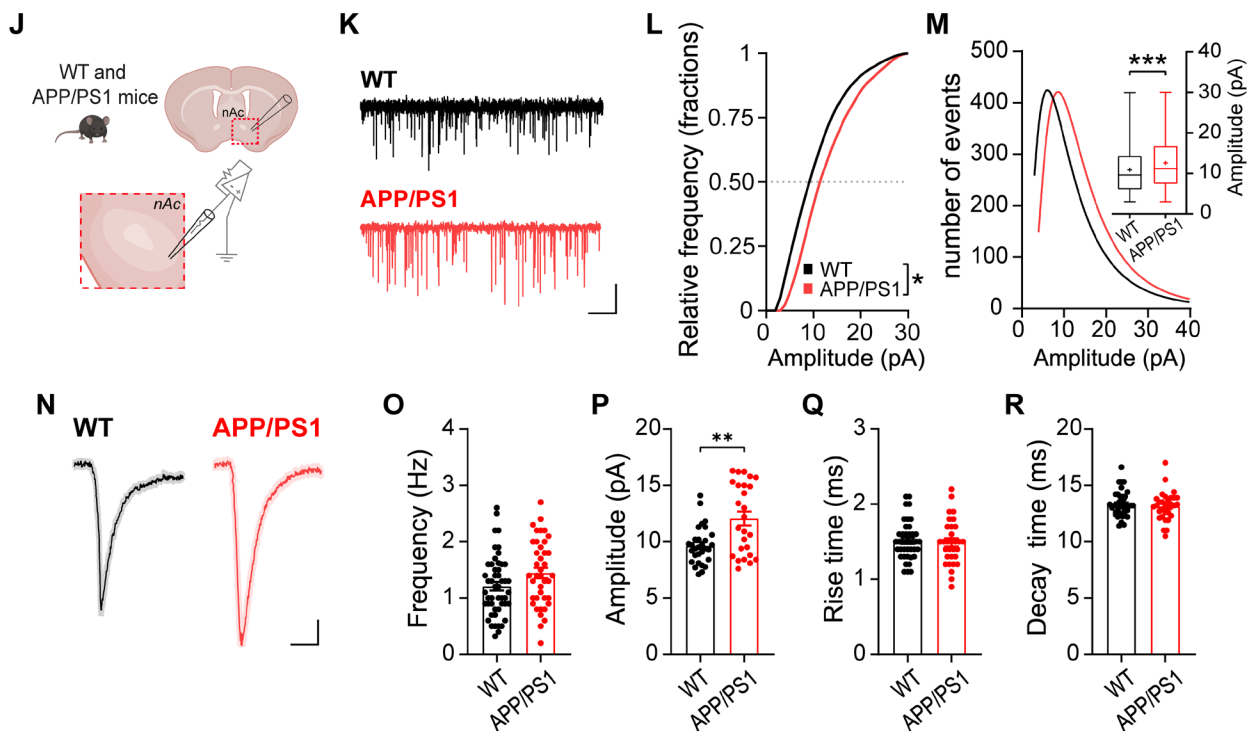


Figura 9: Alteraciones dependientes de la edad en la transmisión sináptica excitatoria mediada por AMPAR en el nAc de ratones APP/PS1

(A–I) Análisis de corrientes postsinápticas excitatorias espontáneas mediadas por AMPAR (sEPSCs) registradas en MSNs del nAc de ratones WT y APP/PS1 de 3 meses de edad. (A) Representación esquemática de la configuración experimental para registros de sEPSCs mediante voltaje-fijo en configuración célula completa en cortes agudos de nAc. (B) Trazos representativos de sEPSCs registradas a -60 mV en MSNs WT (gris) y APP/PS1 (rojo claro). (C) Distribución acumulativa de probabilidad de las amplitudes de sEPSCs que muestra distribuciones superpuestas entre MSNs WT y APP/PS1 ($P = 0.837$, prueba de Mann–Whitney). (D) Histograma de distribución de amplitudes con diagrama de caja que resume las amplitudes de sEPSCs, mostrando ausencia de diferencias significativas entre genotipos (mediana WT = 8.16 pA, APP/PS1 = 7.82 pA; $P = 0.837$, prueba de Mann–Whitney; media geométrica WT = 7.37 pA, APP/PS1 = 6.47 pA). (E) Eventos promedio representativos de sEPSCs en MSNs WT y APP/PS1. (F) Cuantificación de la frecuencia de sEPSCs que no muestra diferencias significativas entre genotipos (mediana WT = 0.70 Hz, APP/PS1 = 0.80 Hz; $P = 0.619$, prueba de Mann–Whitney). (G) Cuantificación de la amplitud de sEPSCs que no muestra diferencias significativas (mediana WT = 9.20 pA, APP/PS1 = 9.05 pA; $P = 0.952$, prueba de Mann–Whitney). (H) Análisis del tiempo de ascenso (rise time) que no muestra diferencias significativas entre genotipos (mediana WT = 1.80 ms, APP/PS1 = 1.90 ms; $P = 0.092$, prueba de Mann–Whitney). (I) Análisis del tiempo de decaimiento (decay time) que no muestra diferencias significativas (media WT = 13.05 ms, APP/PS1 = 13.78 ms; $P = 0.250$, t de Student no pareada de dos colas). (J–R) Análisis de sEPSCs mediadas por AMPAR registradas en MSNs del nAc de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad. (J) Representación esquemática de la configuración experimental para registros celula completa en voltaje fijo en ratones de 6 meses. (K) Registros representativos de sEPSCs

a -60 mV en MSNs WT (negro) y APP/PS1 (rojo). (L) Distribución acumulativa de probabilidad de las amplitudes de sEPSCs que muestra un desplazamiento hacia la derecha en MSNs APP/PS1 en comparación con WT ($P < 0.05$, prueba de Mann–Whitney). (M) Histograma de distribución de amplitudes con diagrama de caja que muestra un incremento significativo en la amplitud promedio de sEPSCs en MSNs APP/PS1 en comparación con WT (t de Welch, $P < 0.001$; media geométrica WT = 9.32 pA, APP/PS1 = 10.95 pA; razón = 1.18, IC 95% = 1.15–1.20; $P = 0.0208$). (N) Eventos promedio representativos de sEPSCs en MSNs WT y APP/PS1. (O) Cuantificación de la frecuencia de sEPSCs que no muestra diferencias significativas entre genotipos (mediana WT = 1.15 Hz, APP/PS1 = 1.40 Hz; $P = 0.052$, prueba de Mann–Whitney). (P) Cuantificación de la amplitud de sEPSCs que muestra un incremento significativo en MSNs APP/PS1 en comparación con WT (mediana WT = 9.45 pA, APP/PS1 = 11.70 pA; $P = 0.006$, prueba de Mann–Whitney). (Q) Análisis del tiempo de ascenso (rise time) que no muestra diferencias significativas entre genotipos. (R) Análisis del tiempo de decaimiento (decay time) que no muestra diferencias significativas entre genotipos. Cada punto de datos representa una neurona registrada individualmente. Los datos se presentan como media \pm SEM, salvo indicación.

6.2.3 Evaluar la plasticidad sináptica en el nAc de ratones WT y APP/PS1 midiendo la depresión a largo plazo.

Dado que los AMPARs son críticos en la modulación de la plasticidad sináptica, y previamente se observó un aumento de las corrientes mediadas por AMPARs, se hipotetizó que también la LTD se vería afectada. Para evaluar alteraciones en la plasticidad sináptica en el núcleo accumbens, se realizaron registros electrofisiológicos en modalidad de *whole-cell* y en configuración *voltage-clamp* en cortes cerebrales del

nAc obtenidos de ratones WT y APP/PS1 de 3 y 6 meses de edad. La LTD se indujo mediante un protocolo de estimulación de alta frecuencia (HFS) en presencia del antagonista de receptores NMDA 2-amino-5-fosfonoaléxico (APV) y del bloqueador de receptores GABA_A y glicina, picrotoxina (PTX), permitiendo aislar corrientes postsinápticas excitatorias evocadas eléctricamente (eEPSCs) mediadas predominantemente por receptores AMPA (Fig. 10A). A los 3 meses de edad, el % de LTD inducida por HFS fue evidente y comparable entre genotipos WT y APP/PS1 (WT: ~40%; APP/PS1: ~40%; $p = 0.6849$) (Fig. 10B-D). En contraste, a los 6 meses de edad, el % de LTD se encontró marcadamente reducido en las MSNs de ratones APP/PS1 ($47.3 \pm 3.2\%$ en WT vs. $11.4 \pm 4.0\%$ en APP/PS1; $t(16) = 3.386$, $p = 0.0038$, $\eta^2 = 0.4174$) (Fig. 10E-G).

Posteriormente, se evaluó la LTD dependiente de receptores metabotrópicos de glutamato de la familia I, que comprende los receptores mGluR1 y mGluR5, mediante la aplicación extracelular del agonista (RS)-3,5-dihidroxifenilglicina (DHPG; 50 μ M) (Fig. 10H). El análisis cuantitativo reveló una reducción significativa en la magnitud de la LTD mediada por mGluR1/5 en el nAc de ratones APP/PS1 en comparación con los ratones WT. Una prueba t de Student no pareada de dos colas mostró una diferencia significativa entre genotipos ($t(13) = 4.155$, $p = 0.0011$), donde las neuronas WT presentaron una LTD robusta (35.33%), mientras que las neuronas APP/PS1 exhibieron una respuesta significativamente atenuada (11.45%) (Fig. 10J-K).

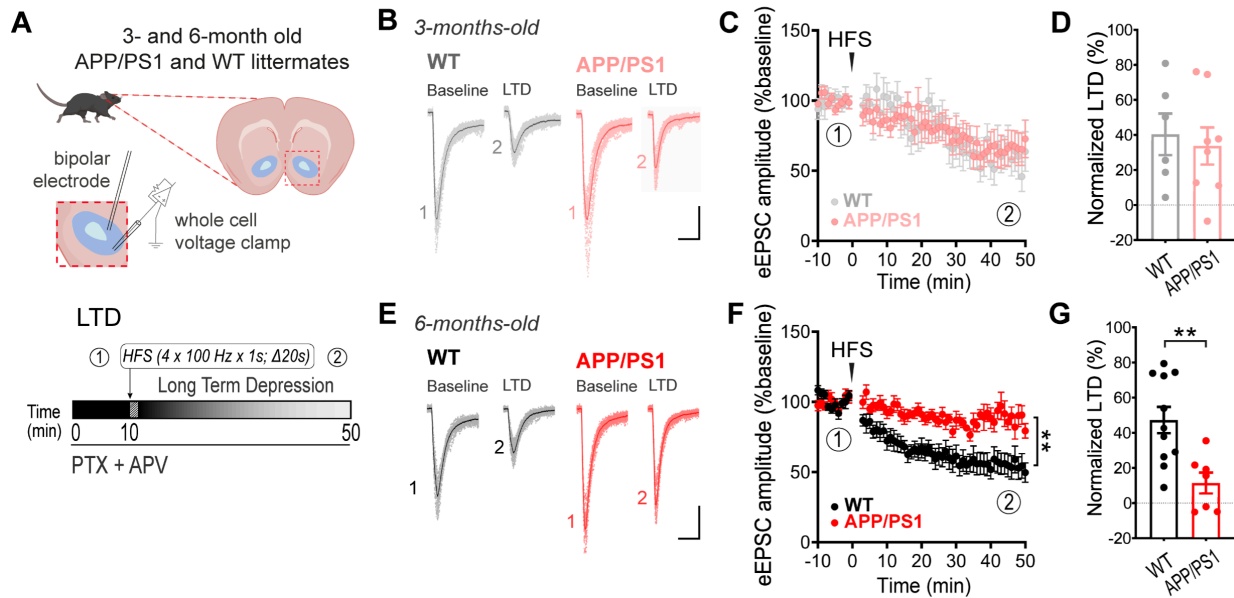
En conjunto, estos resultados sugieren que la LTD es afectada de manera progresiva en etapas iniciales de la enfermedad, observando una importante disminución a los 6 meses de edad. Es importante destacar que, dado que PTX (100 μ M) y APV (50 μ M) estuvieron presentes durante todo el registro, estos resultados indican que la alteración de la LTD

en el nAc de ratones APP/PS1 está asociada a una desregulación de los AMPARs que ocurre aún bajo el bloqueo farmacológico de los receptores de glicina (GlyRs), GABA (GABAARs), y glutamato tipo NMDA (NMDARs).

6.2.4 Medir la razón de liberación de neurotransmisores mediante estimulación eléctrica pareada y determinar la razón AMPA/NMDA en las MSNs del nAc de ratones WT y APP/PS1.

Para evaluar el sitio sináptico del deterioro de la LTD observado en el nAc de ratones APP/PS1, se midió inicialmente la razón de pulsos pareados (PPR), la cual permite inferir cambios presinápticos asociados a alteraciones en la probabilidad de liberación de neurotransmisor. Se realizaron registros electrofisiológicos en cortes cerebrales de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad, evocando eEPSCs mediante estimulación de pulsos pareados (Fig. 10L). El cociente entre la amplitud del segundo y el primer eEPSC no mostró diferencias significativas entre genotipos, lo que sugiere que la liberación presináptica de neurotransmisor se mantiene intacta en el núcleo accumbens de ratones APP/PS1 a los 6 meses de edad (Fig. 10M-N). Estos resultados sugieren que el deterioro de la LTD no se origina a nivel presináptico, sino que emerge predominantemente de mecanismos postsinápticos.

Depresión a largo plazo inducida eléctricamente en ratones WT y APP/PS1 de 3 y 6 meses de edad



Depresión a largo plazo inducida químicamente en ratones WT y APP de 6 meses de edad

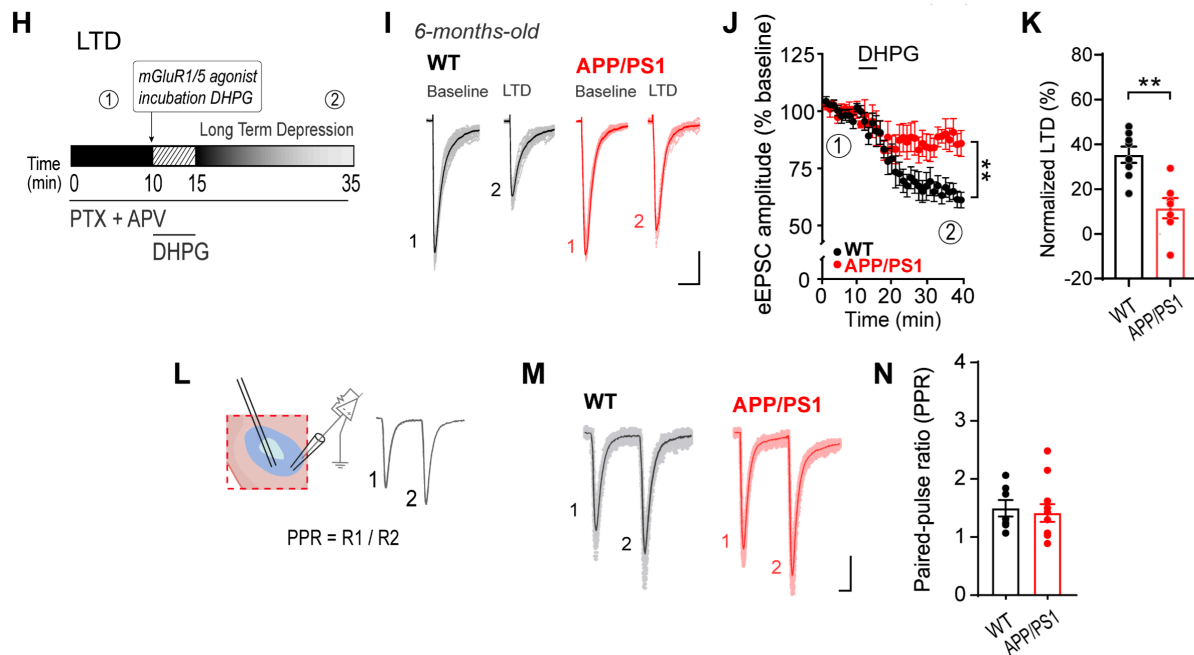


Figura 10: Alteración dependiente de la edad de los mecanismos de depresión sináptica en el núcleo accumbens de ratones APP/PS1

(A) Representación esquemática del diseño experimental para registros en configuración de eEPSCs en MSNs del nAc de ratones WT y APP/PS1 de 3 y 6 meses de edad. La línea temporal experimental indica la adquisición de la línea base (①) y la cuantificación

de la expresión de LTD (②) inducida eléctricamente mediante estimulación de alta frecuencia (HFS), calculada como la amplitud promedio de eEPSCs durante los últimos 5 minutos de registro normalizada respecto al período basal de 10 minutos. (B) Trazos promedio representativos de eEPSCs mediadas por AMPARs registradas en MSNs de ratones WT de 3 meses (gris) y APP/PS1 (rojo claro) durante la línea base y después de la inducción de LTD mediante estimulación de alta frecuencia (HFS). (C) Curso temporal de la amplitud normalizada de eEPSCs en ratones de 3 meses, mostrando una expresión comparable de LTD en MSNs WT y APP/PS1. (D) Cuantificación de la magnitud de LTD normalizada (%) a los 3 meses no revela diferencias significativas entre genotipos (t de Student no pareado de dos colas, $t(12) = 0.4158$, $P = 0.6849$). (E) Trazos promedio representativos de eEPSCs registradas en MSNs de ratones WT de 6 meses (negro) y APP/PS1 (rojo) durante la línea base y después de la inducción de LTD. (F) Curso temporal de la amplitud normalizada de eEPSCs en ratones de 6 meses que muestra una reducción de la expresión de LTD en MSNs APP/PS1 en comparación con WT. (G) Cuantificación de la magnitud de LTD normalizada (%) a los 6 meses que demuestra una reducción significativa de LTD en MSNs APP/PS1 en relación con WT (t de Student no pareada de dos colas, $t(16) = 3.386$, $P = 0.0038$). (H) Representación esquemática de registros célula completa y voltaje fijo en MSNs del nAc de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses durante la inducción química de LTD mediada por mGluRs. (I) Trazos promedio representativos de eEPSCs registradas antes y después de la aplicación de DHPG (50 μM) en MSNs WT y APP/PS1. (J) Curso temporal de la amplitud normalizada de eEPSCs tras la aplicación del agonista de mGluR1/5, DHPG, mostrando un % de LTD robusta en MSNs WT, pero no en MSNs de ratones APP/PS1. (K) Cuantificación de la LTD inducida por DHPG que revela un deterioro significativo en MSNs APP/PS1 en comparación con

WT. El análisis estadístico mediante t de Student no pareado de dos colas muestra una reducción significativa en la magnitud de LTD en neuronas APP/PS1 ($t(13) = 4.155$, $P = 0.0011$; media WT = 35.33%, media APP/PS1 = 11.45%). (L) Representación esquemática del protocolo de estimulación pareada utilizado para evaluar la PPR, en el cual se evocan eEPSCs pareados con un intervalo inter-estímulo fijo y se calcula el índice PPR como la razón entre la segunda y la primera respuesta ($R2/R1$). (M) Registros promedio representativos de eEPSCs pareados en MSNs del nAc de ratones WT (negro) y APP/PS1 (rojo). (N) Cuantificación del PPR no muestra diferencias significativas entre genotipos (t de Student no pareado de dos colas, $t(16) = 0.364$, $P = 0.721$), indicando que la probabilidad de liberación presináptica se mantiene preservada. Los datos se presentan como media \pm SEM y cada punto representa una neurona registrada individualmente. Tamaños muestrales (N neurona/N animales) LTD a 3 meses: WT 6/3, APP/PS1 8/3; LTD a 6 meses: WT 11/5, APP/PS1 7/4; LTD inducido químicamente a 6 meses: WT 8/4, APP/PS1 7/4; análisis de PPR, WT 11/3, APP/PS1 7/3. ** $P < 0.01$.

Dado que la plasticidad sináptica depende críticamente de la remodelación de receptores excitatorios de glutamato, se evaluó la razón AMPAR/NMDAR en MSNs mediante registros electrofisiológicos en modalidad de célula completa y voltaje fijo en cortes del nAc de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad (Fig. 7A-C). La razón AMPAR/NMDAR refleja la eficacia relativa de la transmisión excitatoria mediada por receptores AMPA en comparación con receptores NMDA. Los registros se realizaron a un potencial de mantención de +40 mV, condición que libera el bloqueo por Mg^{2+} de los NMDARs y permite la evaluación simultánea de ambos componentes sinápticos. Posteriormente, el componente mediado por NMDAR fue bloqueado usando APV,

permitiendo aislar farmacológicamente la respuesta mediada por AMPAR a +40mV y obtener por sustracción la componente NMDAR desde la respuesta compuesta (Fig. 11A) fueron aislados farmacológicamente y sustraídos digitalmente para obtener de manera específica la contribución de cada receptor (Fig. 11A-B). Las MSNs de ratones APP/PS1 mostraron una reducción significativa en la razón AMPAR/NMDAR en comparación con los controles WT (Fig. 11C).

Dado que las corrientes mediadas por AMPARs registradas a potenciales despolarizados (+40 mV) están fuertemente influenciadas por las subunidades que componen al receptor, pudiendo mostrar rectificación de entrada y bloqueo por poliaminas característicos de los AMPARs permeables a Ca^{2+} (Cull-Candy & Farrant, 2021), la disminución de la razón AMPA/NMDA es poco probable que refleje una reducción generalizada de la fuerza sináptica excitatoria. En su lugar, estos resultados sugieren una reorganización postsináptica de las poblaciones de receptores AMPA y/o alteraciones en su expresión o estabilidad en la superficie sináptica.

6.2.5 Determinar los niveles de expresión proteica mRNA de proteínas sinápticas mediante Western blot y qPCR en el nAc de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad.

Para determinar si la disfunción sináptica está relacionada con alteraciones en la expresión de proteínas sinápticas, se evaluaron algunos marcadores pre- y postsinápticos en tejido completo del nAc de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad mediante Western blot. Los niveles de la proteína presináptica SV2 no mostraron diferencias significativas entre ratones WT y APP/PS1 (Fig. 11D–E), lo que sugiere que la integridad presináptica se encuentra preservada. En contraste, la proteína de

andamiaje postsináptico PSD95 y las subunidades del AMPAR GluA1 y GluA2 se encontraron significativamente aumentadas en ratones APP/PS1 (Fig. 11D–E). Estos resultados indican que el deterioro de la LTD se asocia a un remodelamiento glutamatérgico postsináptico, más que a alteraciones en el compartimento presináptico.

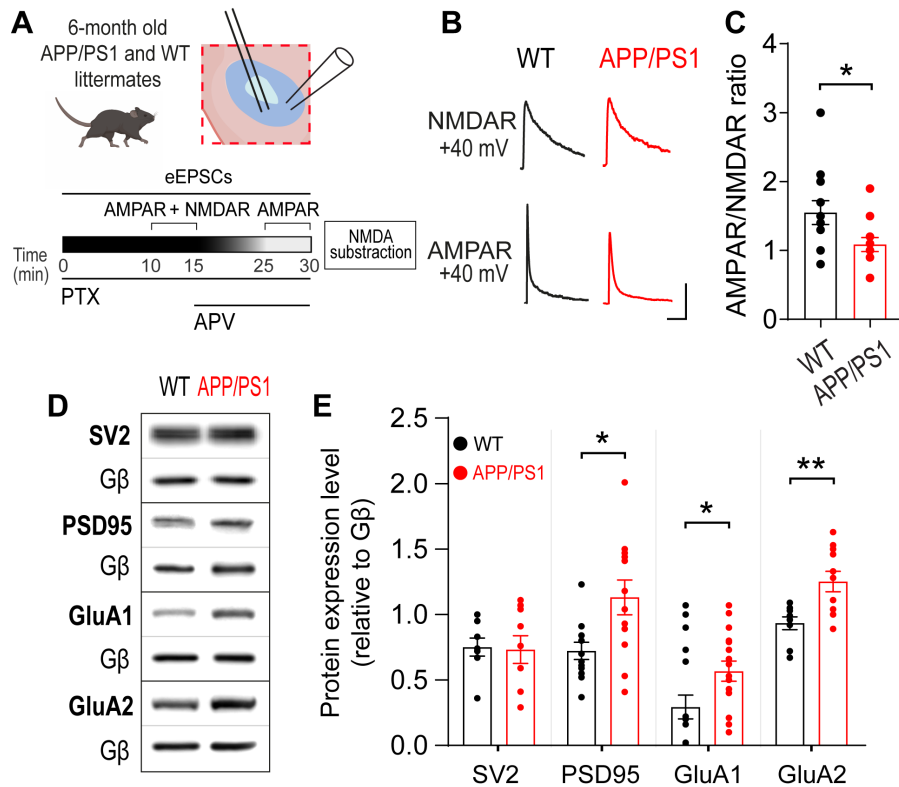


Figura 11: Alteraciones sinápticas relacionadas con AMPAR en el núcleo accumbens de ratones APP/PS1 de 6 meses de edad

(A) Representación esquemática del diseño experimental utilizado para evaluar la transmisión sináptica mediada por AMPAR y NMDAR en neuronas espinosas medianas (MSNs) del nAc de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad. Se realizaron registros whole-cell en configuración voltage-clamp a +40 mV para aislar corrientes postsinápticas excitatorias evocadas mixtas mediadas por AMPAR+NMDAR (eEPSCs). Posteriormente, se aislaron farmacológicamente las corrientes mediadas por AMPAR tras la aplicación de APV, y mediante sustracción digital se obtuvo el componente mediado por NMDARs. (B)

eEPSCs representativas mediadas por AMPAR y NMDAR registradas a +40 mV en MSNs de ratones WT (negro) y APP/PS1 (rojo). (C) Cuantificación de la razón AMPAR/NMDAR que revela una reducción significativa en ratones APP/PS1 en comparación con WT (t de Student no pareado de dos colas, $t(23)=2.236$, $P=0.027$; N(neuronas/ratones): WT $n=12/4$; APP/PS1 $n=13/4$). Escala: 50 pA / 100 ms. (D) Western blot representativo de proteínas sinápticas extraídas del nAc de ratones WT y APP/PS1. (E) Cuantificación de los niveles de expresión proteica normalizados a G β . No se observaron diferencias significativas en el marcador presináptico SV2 entre genotipos (t de Student no pareado de dos colas, $t(15)=0.1462$, $P=0.886$; WT $n=8$, APP/PS1 $n=9$). Los niveles de PSD95 se incrementaron significativamente en ratones APP/PS1 (t de Student no pareado de dos colas con corrección de Welch, $t(16.19)=2.762$, $P=0.014$; WT $n=12$, APP/PS1 $n=12$). La expresión de GluA1 se encontró significativamente elevada en ratones APP/PS1 (prueba de Mann–Whitney, $U=80.50$, P exacto bilateral= 0.016 ; WT $n=19$, APP/PS1 $n=16$). Los niveles de GluA2 también aumentaron significativamente en ratones APP/PS1 (t de Student no pareado de dos colas, $t(18)=3.314$, $P=0.0039$; WT $n=9$, APP/PS1 $n=11$). Los datos se presentan como media \pm SEM. * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

Con el fin de determinar si estos cambios se originan a nivel transcripcional, se analizaron los niveles de ARN mensajero de GluA1, GluA2, Grin1 y Grin2b a los 6 y 9 meses de edad. No se detectaron diferencias significativas entre genotipos en ninguno de los dos estadios temporales evaluados (Fig. 12A-D), lo que sugiere que el aumento en los niveles proteicos de AMPARs probablemente resulta de mecanismos postranscripcionales y/o traduccionales, más que de cambios en la expresión génica.

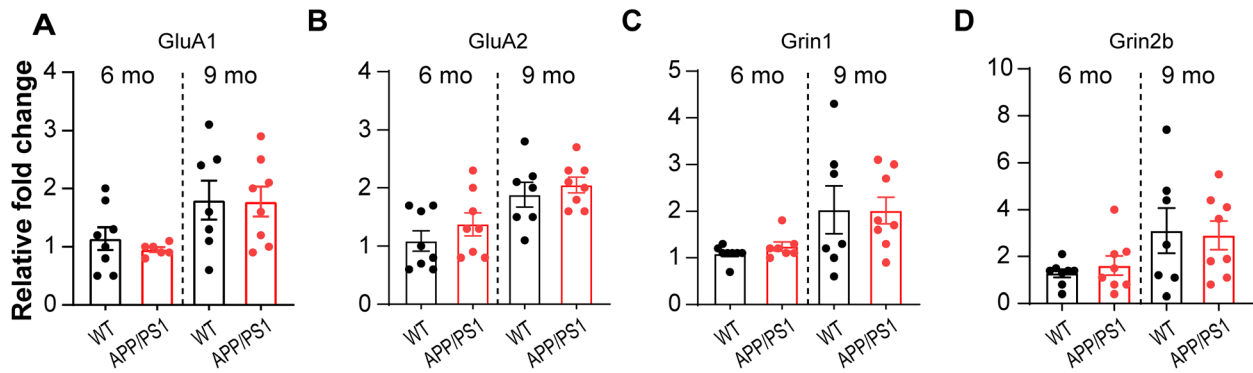


Figura 12: Expresión relativa de las subunidades de receptores de glutamato en el núcleo accumbens de ratones WT y APP/PS1

(A–D) Niveles relativos de expresión de ARNm evaluados mediante RT–qPCR para Gria1 (GluA1), Gria2 (GluA2), Grin1 (GluN1) y Grin2b (GluN2B) en el núcleo accumbens de ratones WT y APP/PS1 a las edades indicadas. No se detectaron diferencias significativas entre genotipos para ninguno de los transcritos en ninguno de los puntos temporales analizados (t de Student no pareado de dos colas o ANOVA de dos vías según correspondiera; todos $p > 0.05$). Los datos se presentan como media \pm SEM. Cada punto de datos representa un animal.

6.2.6 Determinar la actividad de calcio mediada por AMPARs a través de fotometría, y la presencia funcional de CP-AMPARs mediante electrofisiología en rebanadas de nAc de ratones WT y APP/PS1.

Considerando las alteraciones postsinápticas observadas en los ratones APP/PS1, nos preguntamos a continuación si estos cambios reflejan un desplazamiento en la composición de subunidades de los AMPARs que favorezca la formación de CP-AMPARs, los cuales pueden carecer de la subunidad GluA2, contener la subunidad GluA2 no editada, o estar formados como homotetrámeros de GluA1, todas

configuraciones que permiten el influjo de Ca^{2+} , presentan corriente de rectificación de entrada y son sensibles a antagonistas selectivos como NASPM (Cull-Candy & Farrant, 2021; Zinchenko et al., 2024).

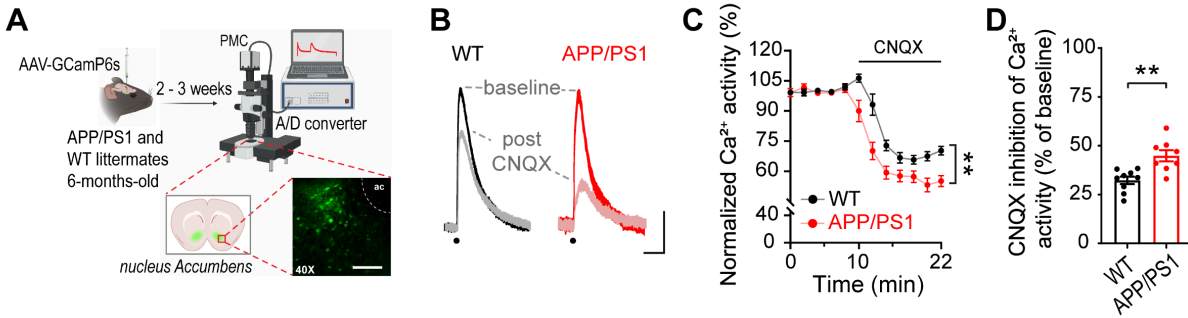
Para evaluar la señalización de Ca^{2+} mediada por AMPARs en el nAc, se expresó GCaMP6s en el nAc de ratones WT y APP/PS1 de 6 meses de edad y se registró transitorias de Ca^{2+} evocadas eléctricamente en cortes cerebrales accumbales (Fig. 13A–D). La aplicación extracelular del antagonista de AMPARs, CNQX (5 μM), se utilizó para medir el componente dependiente de AMPARs de la respuesta de Ca^{2+} , cuantificando la reducción de la señal fluorescente tras el bloqueo de estos receptores respecto a la línea base. Las rebanadas accumbales de ratones APP/PS1 mostraron reducciones significativamente mayores de las transitorias de Ca^{2+} sensibles a CNQX en comparación con las rebanadas de animales WT (Fig. 13C–D), sugiriendo que una mayor proporción de la actividad de Ca^{2+} evocada depende de la activación de AMPARs en el nAc de ratones APP/PS1. Dado que los CP-AMPArs permiten el influjo de Ca^{2+} y potencian la señalización intracelular dependiente de Ca^{2+} (Guo & Ma, 2021), este aumento es consistente con una mayor actividad de Ca^{2+} mediada por AMPARs, apuntando a un incremento de CP-AMPArs en el nAc de ratones APP/PS1 en etapas tempranas de la EA.

Por lo tanto, evaluamos el comportamiento de rectificación asociado a los CP-AMPArs cuantificando el índice de rectificación (RI) de las eEPSCs mediadas por AMPARs, registradas a un potencial de membrana fijo que va desde -60 mV hasta $+40$ mV en incrementos de 20 mV (Fig. 13E–H). Los resultados muestran que las MSNs APP/PS1 presentaron amplitudes de corriente marcadamente menores a potenciales

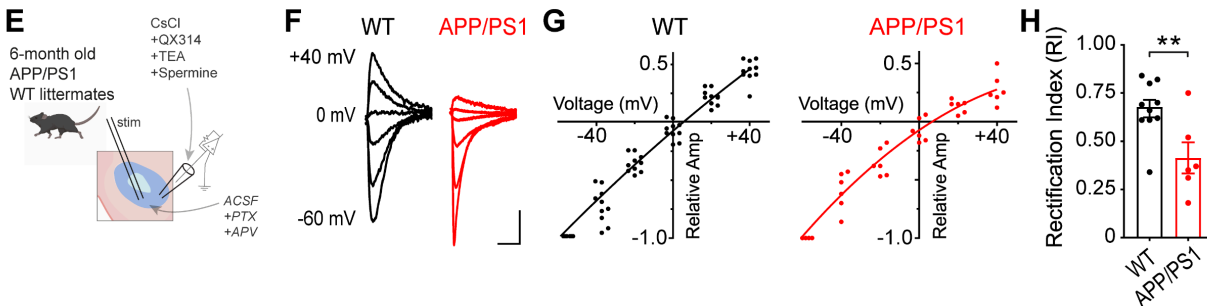
despolarizados en comparación con las MSNs WT, lo que se tradujo en un RI significativamente menor (WT \approx 0,7; APP/PS1 \approx 0,4; prueba t no pareada de dos colas, $t(14) = 2,989$, $p = 0,0098$) (Fig. 13H). Esta propiedad de rectificación entrante refleja el bloqueo dependiente de voltaje de los AMPARs carentes de GluA2 por poliaminas intracelulares, permitiendo la identificación funcional de CP-AMPARs (Cull-Candy & Farrant, 2021). En conjunto, estos hallazgos proporcionan evidencia de una mayor incorporación de AMPARs permeables a calcio en las sinapsis accumbales de ratones APP/PS1 en etapas tempranas de la EA.

Finalmente, para evaluar directamente la contribución funcional de los CP-AMPARs, se realizó electrofisiología en rebanadas, estimulando eléctricamente para inducir corrientes excitatorias mediadas por AMPARs mediante el uso de bloqueadores farmacológicos de la transmisión inhibitoria y los NMDARs a través de la incubación con PTX y APV (Fig. 13I). Posterior al registro de la línea base, se evaluó la sensibilidad de las corrientes AMPAérgicas a la perfusión del antagonista específico de CP-AMPARs, NASPM (0.15 mM), observando una inhibición significativamente mayor en las MSNs APP/PS1 (~40% de reducción) en comparación con las MSNs WT (~20%) (Fig. 13K-L), lo que es consistente con una mayor contribución de AMPARs permeables a calcio a la transmisión sináptica accumbal de ratones APP/PS1 durante etapas tempranas de la EA.

Evaluación de transitorias de calcio mediante GCamP6s en ratones WT y APP de 6 meses de edad



Análisis del índice de rectificación (RI) en MSNs de ratones WT y APP de 6 meses de edad



Evaluación de corrientes sensibles al antagonista de CP-AMPA en el nAc de ratones WT y APP de 6 m.

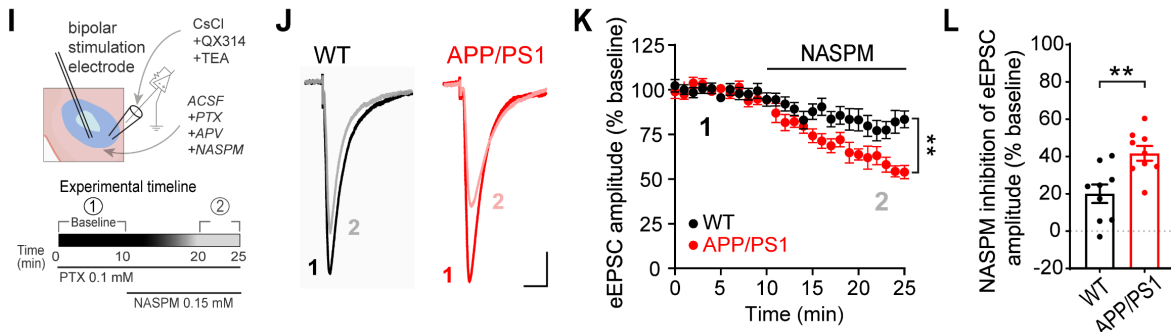


Figura 13: Mayor contribución funcional de receptores AMPA permeables a calcio en el núcleo accumbens de ratones APP/PS1 en etapas pre-placa

(A) AAV-GCaMP6s fue inyectado en el nAc de ratones WT y APP/PS1 y se permitió su expresión durante 2–3 semanas antes de la preparación de cortes agudos accumbales para experimentos de imagen de calcio. (B) Transientes representativas de calcio evocadas eléctricamente y registrados en el nAc de ratones WT de 6 meses (negro) y APP/PS1 (rojo) antes y después de la aplicación del antagonista de AMPAR CNQX.

escala: 25 % $\Delta F/F$ / 2 s. (C) Curso temporal de la actividad de fluorescencia dependiente de Ca^{2+} de GCaMP6s normalizada (% de la línea base), que muestra una inhibición mayor tras la incubación con CNQX en cortes accumbales de ratones APP/PS1. (D) Cuantificación de la actividad de Ca^{2+} sensible a CNQX que revela una inhibición significativamente mayor en ratones APP/PS1 en comparación con WT (t de Student no pareada de dos colas, $t(15)=3.725$, $p=0.002$; WT 9 registros/ 4 ratones; APP/PS1 8/4). (E) Configuración experimental de registros célula completa y voltaje fijo para registrar corrientes postsinápticas excitatorias evocadas eléctricamente (eEPSCs) en MSNs del nAc de ratones de 6 meses. Los registros se realizaron utilizando una solución intracelular que contenía espermina (100 μM). (F) Trazos representativos de eEPSCs registradas entre -60 mV y +40 mV ($\Delta 20$ mV) en MSNs WT (negro) y APP/PS1 (rojo). Escala: 50 pA / 15 ms. (G) Relaciones corriente-voltaje que muestran una rectificación de entrada reducida en MSNs APP/PS1. (H) Cuantificación del índice de rectificación (RI) que muestra una disminución significativa en MSNs APP/PS1 (t de Student no pareada de dos colas, $t(14)=2.989$, $p=0.0098$). Tamaño de muestra (neuronas/ratones): WT n=10/4; APP/PS1 n=6/4. (I) Protocolo experimental para el aislamiento farmacológico de AMPAR permeables a calcio utilizando NASPM. (J) Trazas representativas de eEPSCs registradas antes y después de la aplicación de NASPM (150 μM). Escala: 30 pA / 25 ms. (K) Curso temporal de la amplitud normalizada de eEPSCs (% de la línea base) que muestra una mayor inhibición inducida por NASPM en MSNs APP/PS1. (L) Cuantificación de la inhibición de eEPSCs sensible a NASPM que confirma una mayor sensibilidad a NASPM en MSNs APP/PS1 en comparación con WT (t de Student no pareada de dos colas, $t(14)=2.98$, $p=0.0098$). Tamaño de muestra (neuronas/ratones): WT 9/4; APP/PS1

9/4. Los datos se presentan como media \pm SEM. Cada punto de datos representa un registro o neurona individual.

6.3 Objetivo específico 3: Evaluar la contribución de la señalización dopaminérgica y los CP-AMPARs sobre la transmisión sináptica excitatoria y la depresión a largo plazo de las D1+ y D1– MSNs del nAc de ratones fluorescentes WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom}.

6.3.1 Medir la transmisión sináptica excitatoria en D1+ MSNs y D1R- del nAc de ratones WT y APP/PS1 fluorescentes de 6 meses de edad.

Anteriormente, se observó que tanto D1+ como D1– MSNs de ratones APP/PS1 contenían niveles significativamente mayores de A β intracelular respecto al ratón WT (Fig. 6). Además, sin diferenciar entre tipo neuronal, se observó un incremento en la amplitud, pero no frecuencia de las corrientes sinápticas excitatorias mediadas por AMPARs (Fig. 9). De igual manera, se observó una disminución de la LTD asociado a cambios postsinápticos mediados por AMPARs en las MSNs del nAc (Fig. 10), sugiriendo un refuerzo de la transmisión sináptica excitatoria. Sin embargo, no queda claro si las alteraciones postsinápticas serían inespecíficas a las neuronas del nAc o serían dependientes del subtipo de MSN tanto D1+ como D1– durante las etapas iniciales del desarrollo de la EA.

Para resolver esta pregunta, se realizaron experimentos de electrofisiología en rebanadas de cerebro de ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses de edad, los cuales expresan la proteína fluorescente roja tdTomato bajo el promotor del receptor de dopamina tipo D1, permitiendo la identificación de MSNs D1+ como D1– (Fig. 14A). Utilizando la modalidad de célula completa y la configuración de voltaje fijo, se registraron

las corrientes excitatorias espontáneas en presencia de inhibidores de GABA_ARs, GlyRs, y NMDARs, aislando corrientes sinápticas mediadas por receptores AMPARs principalmente (Fig. 14A). El análisis cuantitativo reveló una interacción significativa entre genotipo y la expresión de D1R para la amplitud de las sEPSCs (Fig. 14C-D). Consecuentemente, la prueba post hoc de Sidak mostró un incremento significativo en la amplitud de las sEPSCs de las D1R+ MSNs de ratones comparada con las D1R+ WT (Fig. 14G). Estos resultados confirman el incremento de la transmisión sináptica mediada por AMPAR en el nAc de ratones APP/PS1, indicando que este efecto sería asociado selectivamente a las D1R+ MSNs.

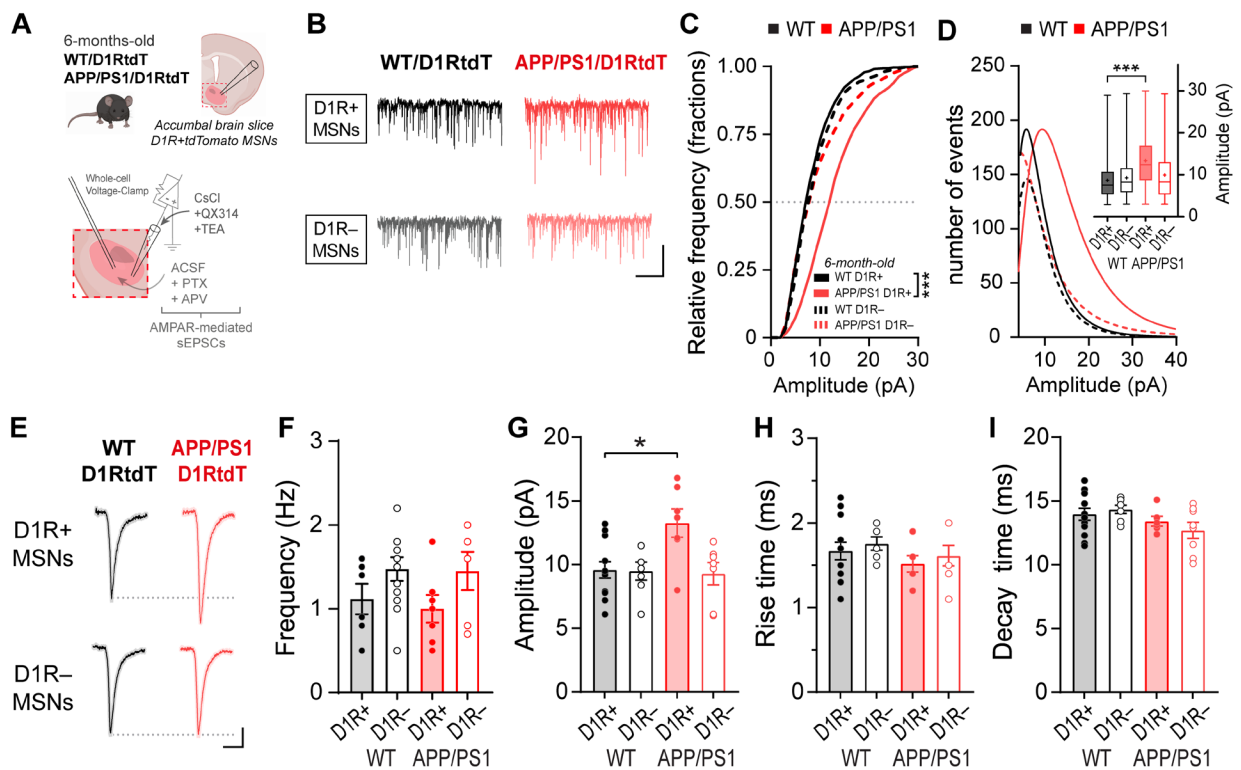


Figura 14: Incremento selectivo de la transmisión excitatoria mediada por AMPAR en D1+ MSNs del núcleo accumbens de ratones APP/PS1 de 6 meses

(A) Representación esquemática de la configuración experimental para registros de voltaje fijo en configuración célula completa de corrientes postsinápticas excitatorias

espontáneas mediadas por AMPAR (sEPSCs) en cortes accumbales de ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses de edad. (B) Trazos representativos de sEPSCs registradas a -60 mV en D1+ MSNs (panel superior) y D1- MSNs (panel inferior) en ratones WT (negro) y APP/PS1 (rojo). Escala: 6 pA / 5 s. (C) Distribuciones acumulativas de probabilidad de la amplitud de sEPSCs que muestran un desplazamiento hacia la derecha selectivamente en D1+ MSNs de ratones APP/PS1 en comparación con D1+ MSNs de ratones WT (ANOVA de Welch, $p < 0.001$). Escala: 5 pA / 5 s. (D) Histogramas de distribución de amplitud y diagramas de caja que revelan un aumento significativo en la amplitud de sEPSCs en D1+ MSNs de APP/PS1 en relación con D1+ MSNs de ratones WT (prueba post hoc de Games–Howell, diferencia media = -4.71 pA, IC 95% -5.29 a -4.14, $p < 0.001$), mientras que no se detectaron diferencias entre D1- MSNs de ratones WT y APP/PS1 ($p = 0.094$). (E) Evento promedio representativo de sEPSCs en D1+ MSNs y D1- MSNs de ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom}. Escala: 2 pA / 5 ms. (F) Cuantificación de la frecuencia de sEPSCs no muestra diferencias significativas entre los grupos (ANOVA de una vía, $F(3,27)=1.89$, $p=0.155$). (G) ANOVA de dos vías de la amplitud de sEPSCs que revela una interacción significativa entre genotipo y subtipo de MSN ($F(1,18)=5.86$, $p=0.0057$). Las comparaciones post hoc de Šídák muestran un aumento de la amplitud de sEPSCs en D1+ MSNs de APP/PS1 en comparación con D1+ MSNs de WT (diferencia media = -2.67 pA, IC 95% -5.28 a -0.07, $p = 0.044$), sin diferencias en MSNs D1R- ($p = 0.979$). (H) Análisis del tiempo de ascenso (rise time) que no muestra diferencias significativas entre los grupos (ANOVA de una vía, $F(3,30)=0.66$, $p=0.582$). (I) Análisis del tiempo de decaimiento (decay time) que no muestra diferencias significativas entre los grupos (ANOVA de una vía, $F(3,30)=1.88$, $p=0.154$). Los datos se presentan como media \pm SEM. * $p < 0.05$, *** $p < 0.001$.

6.3.2 Evaluar la selectividad de la pérdida de LTD en MSNs D1+ y D1– del nAc de ratones fluorescentes WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses de edad.

Dado que selectivamente las D1+ MSNs mostraron un incremento en la transmisión excitatoria mediada por AMPARs, y que estos receptores son el componente clave del remodelamiento sináptico (Magee & Grienberger, 2020; Nestler & Luscher, 2019), hipotetizamos que la pérdida de LTD podría ocurrir principalmente en D1+ MSNs y no en D1– MSNs. Para testear esta hipótesis, se realizó electrofisiología en rebanadas de cerebro de ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses de edad, midiendo los niveles de LTD inducida mediante HFS, y distinguiendo el % de LTD entre D1+ y D1– MSNs (Fig. 15A). El análisis estadístico reveló que el % de LTD es significativamente menor en las D1+ MSNs de ratones APP/PS1^{D1Tom} en comparación con las D1+ MSNs de ratones WT^{D1Tom}, mientras que no se encontraron diferencias entre las D1– MSNs de WT^{D1Tom} vs APP/PS1^{D1Tom} y el % de LTD en D1+ MSNs del APP/PS1^{D1Tom} fue también menor que en las D1– MSNs del mismo ratón (Fig. 15C-D).

Para evaluar alteraciones presinápticas asociadas a la disminución de la LTD, se realizó doble estimulación eléctrica antes y después de la inducción de LTD para calcular la PPR sin observar cambios significativos en la probabilidad de liberación entre genotipos o subtipos neuronales (Fig. 15E), indicando que la liberación presináptica de neurotransmisores no es alterada durante etapas iniciales de la EA en ratones.

Estos resultados revelan una alteración selectiva de la LTD en D1+ MSNs de ratones APP/PS1, consistente con cambios postsinápticos posiblemente relacionado con la composición de AMPARs, un aspecto que se explora en el siguiente set de experimentos.

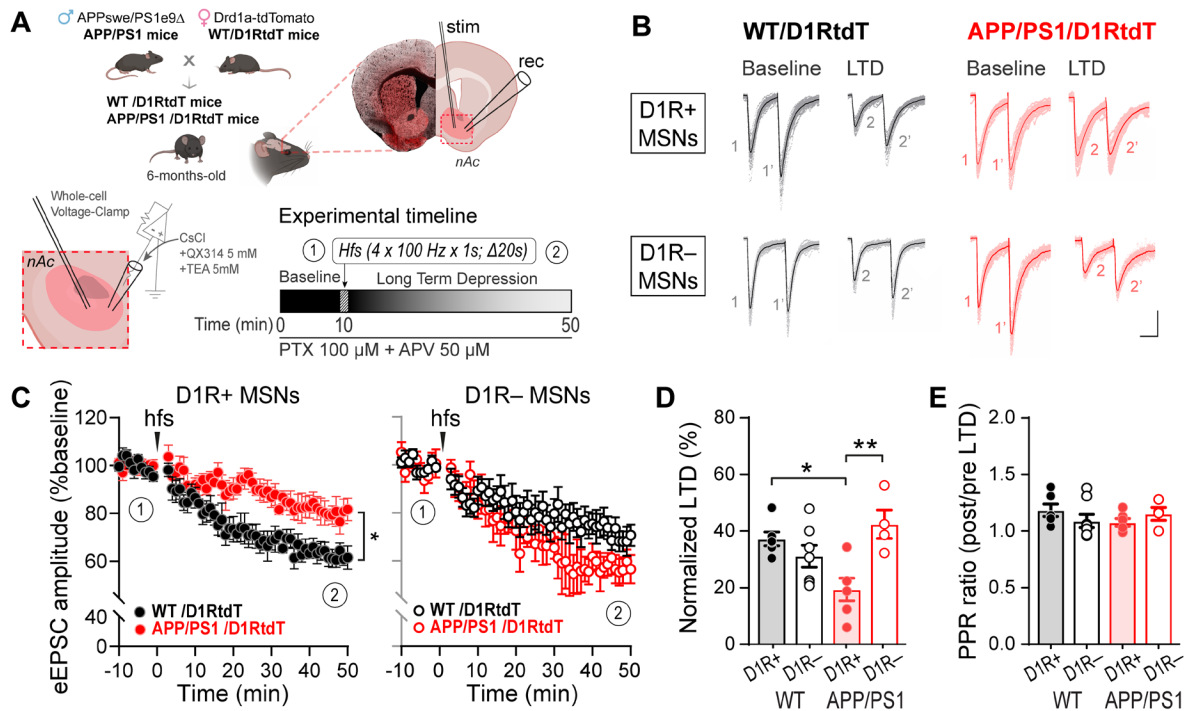


Figura 15: Alteración selectiva de la LTD en D1+ MSNs del nAc de ratones APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses

(A) Representación esquemática de la estrategia experimental. El cruce de ratones APP/PS1 con ratones reporteros Drd1a-tdTomato permite la identificación selectiva de D1+ y D1- MSNs. La línea temporal experimental indica la adquisición de eEPSCs en línea base (1; 10 min), la inducción de LTD mediante estimulación eléctrica y el monitoreo posterior de la expresión de LTD. La magnitud de LTD se calculó normalizando la amplitud promedio de eEPSCs medida durante los últimos 10 minutos del registro (2; 40-50 min) respecto al período de línea base (1).

(B) Trazos representativos de eEPSCs evocados mediante estimulación de pulsos pareados registrados en D1+ y D1- MSNs de ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom} antes (línea base) y después de la inducción de LTD. La estimulación pareada se utilizó para evaluar la probabilidad de liberación presináptica. Escala: 50 pA / 35 ms.

(C) Curso temporal de la amplitud normalizada de eEPSCs en

D1+ MSNs (panel izquierdo) y D1R- (panel derecho). (D) Cuantificación de la magnitud de LTD calculada a partir de los últimos 10 minutos del registro (40–50 min) que revela una reducción significativa de la LTD en D1+ MSNs de ratones APP/PS1^{D1Tom} en comparación con D1+ MSNs de ratones WT^{D1Tom} (ANOVA de una vía, $F(3,19)=6.170$, $p=0.004$; prueba post hoc de Tukey, $p=0.015$). Además, la magnitud de LTD también difiere entre MSNs D1+ y D1- dentro de los ratones APP/PS1^{D1Tom} (prueba post hoc de Tukey, $p=0.005$). (E) La cuantificación de la razón entre PPR antes y después de la inducción de LTD no muestra diferencias significativas entre genotipos ni entre subtipos de MSNs (prueba de Kruskal–Wallis, $p=0.279$; comparaciones múltiples de Dunn). Cada punto de datos representa una neurona registrada individualmente. Número de neuronas y ratones analizados: WT^{D1Tom} D1+ ($n=6/5$), WT^{D1Tom} D1- ($n=7/5$), APP/PS1^{D1Tom} D1+ ($n=6/5$), APP/PS1^{D1Tom} ($n=4/4$). Los gráficos muestran media \pm SEM. * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$.

6.3.3 Determinar la contribución de CP-AMPARs a la disminución de la LTD en D1+ y D1- MSNs de ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1RtdT}

Previamente se mostró que las MSNs del nAc de ratones APP/PS1 manifiestan una disminución significativa de la LTD y un aumento funcional de CP-AMPARs. Adicionalmente, en animales APP/PS1^{D1Tom} se encontró que la transmisión sináptica excitatoria mediada por AMPARs es selectivamente incrementada en D1+ MSNs, por lo que se evaluó cómo la presencia persistente de CP-AMPARs en la membrana de las D1+ MSNs estaría asociada con la expresión alterada de la LTD dependiente de mGluR1/5, un mecanismo de plasticidad homeostática que normalmente promueve la endocitosis de CP-AMPARs (Mango & Ledonne, 2023).

Para analizar esta posibilidad, se realizaron registros electrofisiológicos en modalidad célula completa en D1+ y D1- MSNs de ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses de edad, usando un protocolo secuencial que consistió en la adquisición de línea base, inducción de LTD usando DHPG (agonista de mGluR1/5), y la incubación subsecuente de NASPM para bloquear CP-AMPARs remanentes luego de la inducción de LTD (Fig. 16A-B). En D1+ MSNs de ratones WT^{D1Tom}, DHPG indujo una reducción significativa y sostenida de la amplitud de las eEPSCs, indicando que la LTD dependiente de mGluR1/5 estaba intacta (Fig. 16C-D). Bajo estas condiciones, la incubación subsecuente con NASPM no produjo ninguna reducción adicional de la amplitud de las eEPSCs, indicando que la contribución de CP-AMPARs es mínima luego de la inducción de LTD. En contraste, las D1+ MSNs de ratones APP/PS1^{D1Tom} mostraron una reducción significativa de la LTD dependiente de mGluR1/5. De manera interesante, la incubación subsecuente con NASPM produjo una marcada reducción en la amplitud de las eEPSCs, restaurando la amplitud de LTD a niveles control observado en D1+ MSNs de ratones WT^{D1Tom} (Fig. 16C-D). Además, la medición de la razón por pulsos pareados antes y después de la inducción de LTD no mostro cambios significativos entre ninguna condición (Fig. 16E) indicando que la liberación presináptica se mantiene normal.

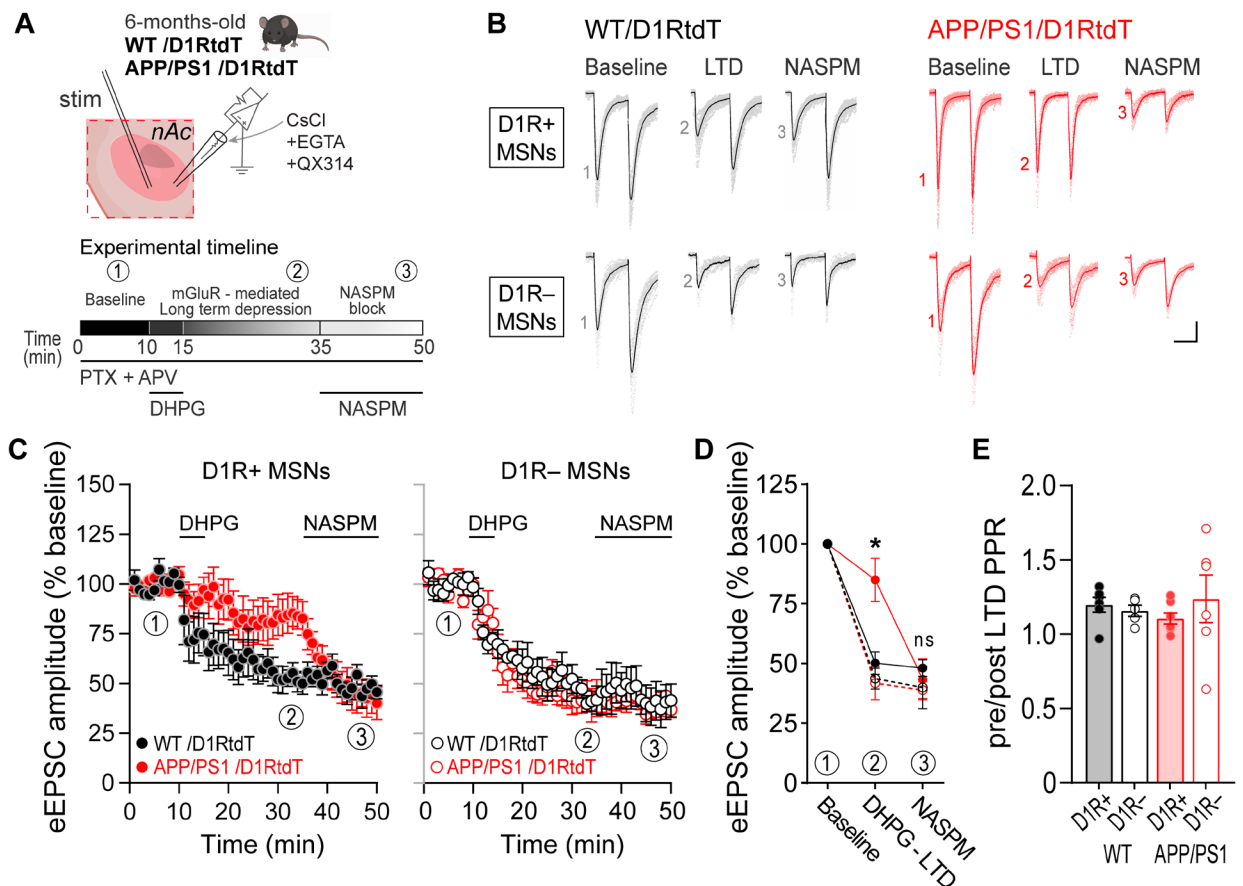


Fig. 16. Alteración de la LTD dependiente de mGluR1/5 y desregulación de CP-AMPA en D1+ MSNs del nAc de ratones APP/PS1^{D1Tom}

(A) Representación esquemática de registros de voltaje fijo en configuración célula completa, realizados en MSNs del nAc de ratones WT^{D1Tom} y APP/PS1^{D1Tom} de 6 meses de edad. Las D1+ MSNs fueron identificadas por la expresión de tdTomato. Tras la adquisición de la línea base (1), se indujo LTD mediante la aplicación en baño de DHPG (50 μ M, 5 min) y se analizó entre los 30–35 minutos (2) respecto a la línea base. Posteriormente se aplicó NASPM (150 μ M), cuya respuesta se analizó durante los últimos 5 minutos del registro (3) respecto a la línea base. (B) Trazos representativos de eEPSCs mediadas por AMPAR registradas en D1+ MSNs (panel superior) y D1- MSNs (panel inferior) en condiciones de línea base, después de la inducción de LTD con DHPG y

durante la incubación con NASPM en ratones WT^{D1Tom} (negro) y APP/PS1^{D1Tom} (rojo). Las respuestas por pulsos pareados se obtuvieron mediante estimulación de doble pulso ($\Delta t = 70$ ms). Escala: 50 pA / 40 ms. (C) Curso temporal de la amplitud normalizada de eEPSCs (% de la línea base) en D1+ MSNs (panel izquierdo) y D1- MSNs (panel derecho). La LTD inducida por DHPG se encontró marcadamente reducida en D1+ MSNs de ratones APP/PS1^{D1Tom} y significativamente restaurada por NASPM, mientras que las D1- MSNs mostraron niveles comparables de LTD entre genotipos. Las barras negras indican los periodos de aplicación de DHPG y NASPM. (D) Cuantificación de la amplitud normalizada de eEPSCs en línea base, después de LTD inducida por DHPG y durante la aplicación de NASPM. Un análisis de efectos mixtos mediante REML reveló efectos principales significativos de etapa ($F(1.845, 36.90)=127.7, p<0.001$), genotipo ($F(3, 20)=4.292, p=0.017$) y una interacción etapa \times genotipo ($F(6, 40)=5.105, p<0.001$). Las comparaciones post hoc de Tukey mostraron una reducción de LTD en D1+ MSNs de APP/PS1^{D1Tom} en comparación con D1+ MSNs de WT^{D1Tom} ($p=0.039$) y con las D1- MSNs de APP/PS1^{D1Tom} ($p=0.014$). (E) Cuantificación del índice por pulsos pareados (PPR; post/pre LTD) que no mostró diferencias significativas entre los grupos (prueba de Kruskal–Wallis, $H(3)=1.928, p=0.587$; comparaciones múltiples de Dunn, todos los p ajustados >0.999). Los datos se presentan como media \pm SEM. Tamaño muestral (neuronas/ratones): WT^{D1Tom} D1+ MSNs 6/4; WT^{D1Tom} D1- MSNs 5/4; APP/PS1^{D1Tom} MSNs 7/5; APP/PS1 D1- MSNs 6/5.

En conjunto, estos resultados sugieren que la LTD dependiente de mGluR1/5 es selectivamente alterada en D1+ MSNs en el nAc de ratones APP/PS1^{D1Tom}, coincidiendo con una señalización persistente de CP-AMPA. El bloqueo agudo de estos receptores permite desenmascarar la depresión sináptica bajo estas condiciones, consistente con

una alteración del remodelamiento de AMPARs durante etapas tempranas del desarrollo de la patología.

6.4 Objetivo específico 4: Evaluar causalidad entre la presencia intraneuronal de A β y cambios selectivos de la excitabilidad y transmisión sináptica excitatoria en D1+ MSNs mediante un modelo agudo de exposición a A β intraneuronal.

6.4.1 Caracterizar los efectos agudos de la diálisis intraneuronal de oligómeros de A β sobre la excitabilidad de las D1+ y D1- MSNs del nAc de ratones WT^{D1Tom}.

Datos previamente publicados por el laboratorio demostraron que la diálisis intraneuronal de oligómeros de A β en neuronas hipocámpales induce un incremento rápido de la excitabilidad neuronal desde concentraciones nanomolares (Fernandez-Perez et al., 2021). Considerando que previamente demostramos un aumento de la excitabilidad en MSNs del nAc de ratones APP/PS1 a los 6 meses de edad, se planteó la hipótesis de que la diálisis intraneuronal de A β en el nAc podría afectar selectivamente la excitabilidad de las D1+ MSNs y reproducir las alteraciones tempranas observadas en el modelo transgénico con acumulación de A β endógeno.

Para evaluar esta hipótesis, se realizaron registros electrofisiológicos en rebanadas accumbales de ratones fluorescentes WT^{D1Tom} de 3 meses de edad. Se midieron las propiedades pasivas y activas de membrana en configuración de célula completa en modo corriente fija, permitiendo registrar variaciones en el potencial de membrana.

En D1- MSNs, la diálisis intraneuronal de 1 μ M de A β no produjo cambios significativos en parámetros pasivos, incluyendo el potencial de membrana en reposo (RMP), ni en la amplitud o frecuencia de eventos despolarizantes (Fig. 17C-E). En contraste, en D1+

MSNs, la presencia de iA β incrementó significativamente la amplitud y la frecuencia de eventos despolarizantes en comparación con el control, sin modificar el valor promedio del RMP (Fig. 17C-E).

Posteriormente, el análisis de las propiedades activas mediante la aplicación de pulsos de corriente hiperpolarizantes y despolarizantes reveló un aumento selectivo de la excitabilidad en D1+ MSNs en presencia de iA β (Fig. 18). Específicamente, el número de potenciales de acción evocados fue significativamente mayor a lo largo de la curva corriente-voltaje (I-V) (Fig. 18A-C, E), acompañado de una disminución significativa en la corriente mínima para evocar un potencial de acción (Fig. 18D). No se observaron cambios en el umbral, la amplitud ni la duración del potencial de acción (Fig. 18F-H).

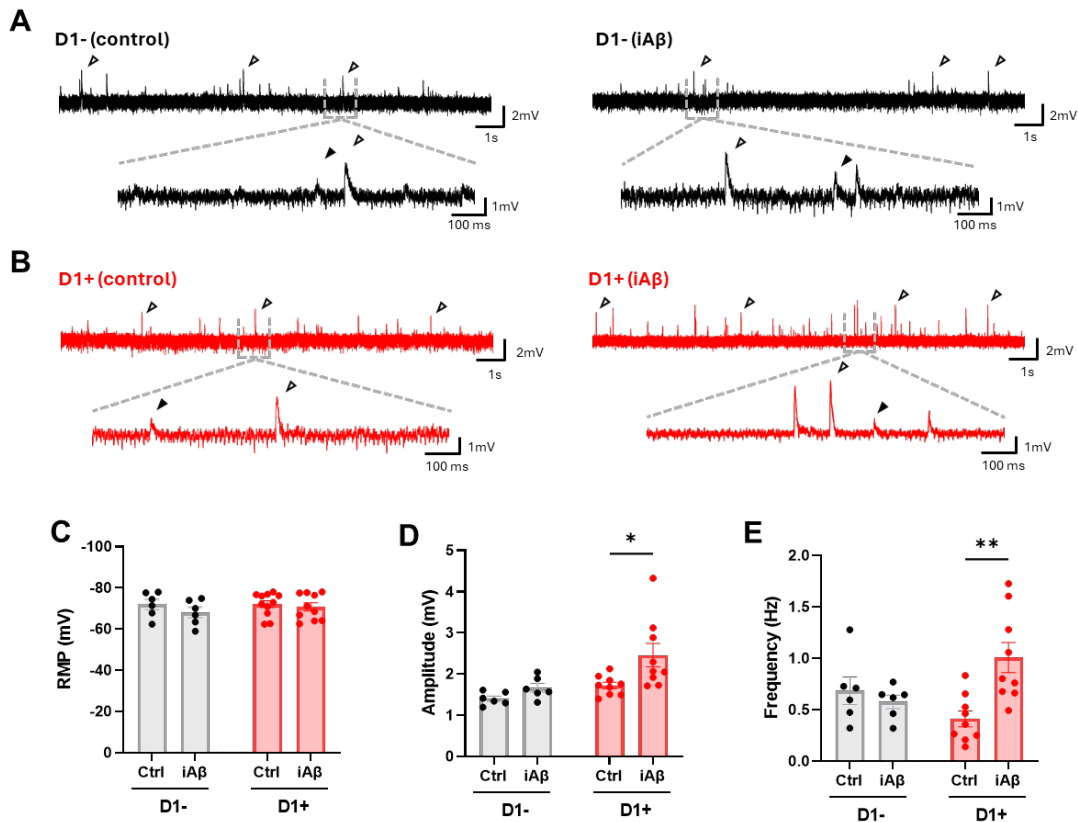


Figura 17: La diálisis intracelular de A β aumenta selectivamente los potenciales postsinápticos excitatorios espontáneos (sEPSPs) en D1R+ MSNs del nAc

Trazos representativos de registros de sEPSPs obtenidos en modo current-clamp (corriente de mantenimiento = 0 pA) en D1- MSNs(A) y D1+ MSNs (B). Los eventos subumbrales detectados e incluidos en el análisis se indican con flechas blancas, mientras que los eventos excluidos del análisis se indican con flechas negras. (C) El potencial de membrana en reposo (RMP) no mostró diferencias significativas entre los grupos. La cuantificación de la amplitud media de sEPSPs (D) y de la frecuencia (E) muestra un incremento significativo selectivo en D1+ MSNs ($p = 0.0305$ y $p = 0.0030$, respectivamente). Los datos fueron analizados estadísticamente mediante ANOVA de dos vías con corrección post hoc de Bonferroni. Los gráficos se presentan como media \pm SEM y cada punto representa una neurona registrada. $n = 6$ animales.

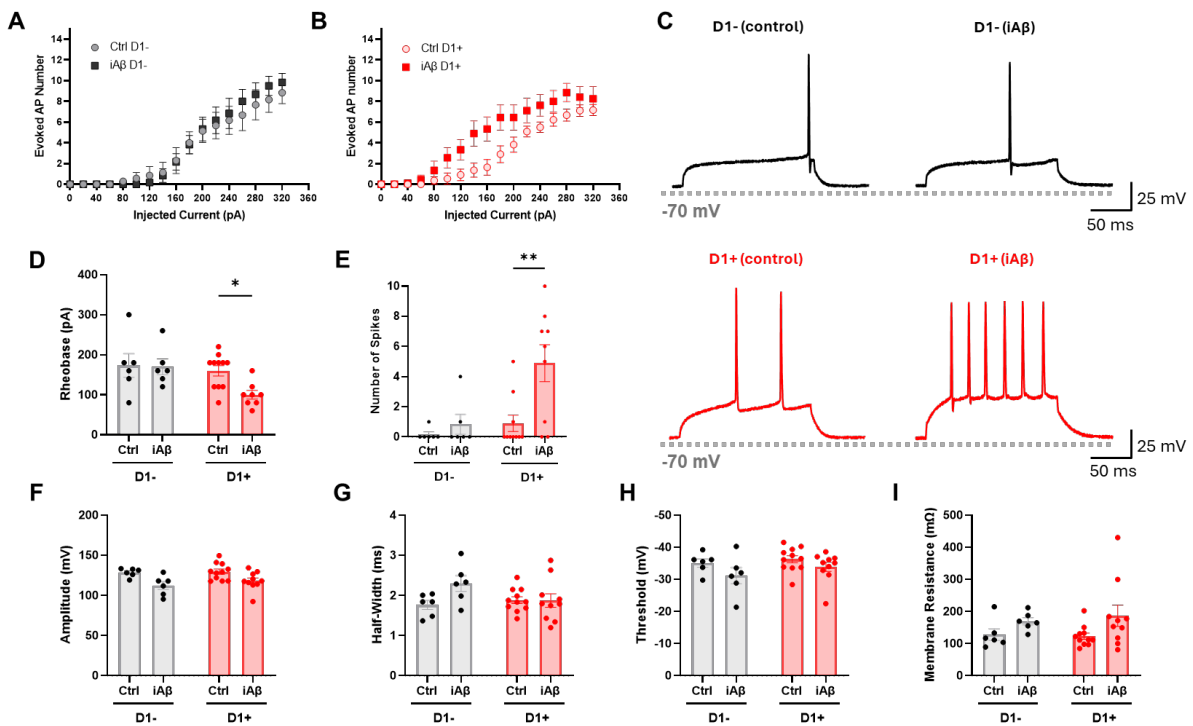


Figura 18: La diálisis intraneuronal de Aβ incrementa selectivamente la excitabilidad intrínseca en D1+ MSNs del nAc de ratones WT^{D1Tom}

Curvas de entrada–salida que muestran la relación entre la corriente inyectada y el número de APs evocados en D1– MSNs (A) y D1+ MSNs (B). Trazos representativos de potenciales de acción evocados mediante una inyección de corriente de 140 pA en D1– MSNs (C) y en D1+ MSN (F). (D) La cuantificación de la rebase mostro una disminución significativa selectivamente en D1+ MSNs ($p = 0.0248$). (E) Cuantificación del número de potenciales de acción evocados a 140 pA que revela un incremento significativo únicamente en D1+ MSNs ($p = 0.0060$). La cuantificación de la amplitud del potencial de acción (F), la duración (G), el umbral del potencial de acción (H) y la resistencia de membrana (I) no muestra diferencias significativas entre las condiciones. Los datos fueron analizados mediante ANOVA de dos vías con corrección post hoc de Bonferroni. Los gráficos se presentan como media \pm SEM. Cada punto representa una neurona registrada. $n = 6$ animales.

En conjunto, estos resultados no solo son consistentes con hallazgos previos en modelos transgénicos APP/PS1, sino que además aportan evidencia causal de que oligómeros de A β aumentan selectivamente la excitabilidad de las D1+ MSNs del nAc, mientras que las D1– MSNs muestran resiliencia frente a esta perturbación o no expresan efectores claves para la acción moduladora de A β intraneuronal respecto a las D1+ MSNs.

6.4.2 Caracterizar los efectos agudos de la diálisis intraneuronal de oligómeros de A β sobre la transmisión sináptica excitatoria mediada por AMPARs en las de las D1+ y D1– MSNs del nAc de ratones WT^{D1Tom}

En los modelos APP/PS1 y APP/PS1^{D1Tom} se confirmó previamente que la transmisión sináptica mediada por AMPARs es significativamente incrementada a los 6 meses de edad, afectando de manera selectiva a las D1+ MSNs. Con el objetivo de establecer una

relación causal entre la presencia intraneuronal de oligómeros de A β en D1+ MSNs y el incremento de las corrientes mediadas por AMPARs, se realizaron registros electrofisiológicos para evaluar eventos miniatura excitatorios (mEPSCs) mediados por AMPARs en D1+ y D1– MSNs del nAc de ratones WT^{D1Tom}.

Los resultados mostraron que la diálisis intraneuronal de A β incrementó significativamente la amplitud de las mEPSCs mediadas por AMPARs de manera selectiva en D1+ MSNs, en comparación con la condición control (Fig. 19A-B, D). En contraste, no se observaron diferencias en otros parámetros, como el tiempo de decaimiento (decay time) o la frecuencia de los eventos (Fig. 19E-F). En las MSNs D1R– no se detectaron cambios significativos en ninguno de los parámetros analizados (Fig. 19).

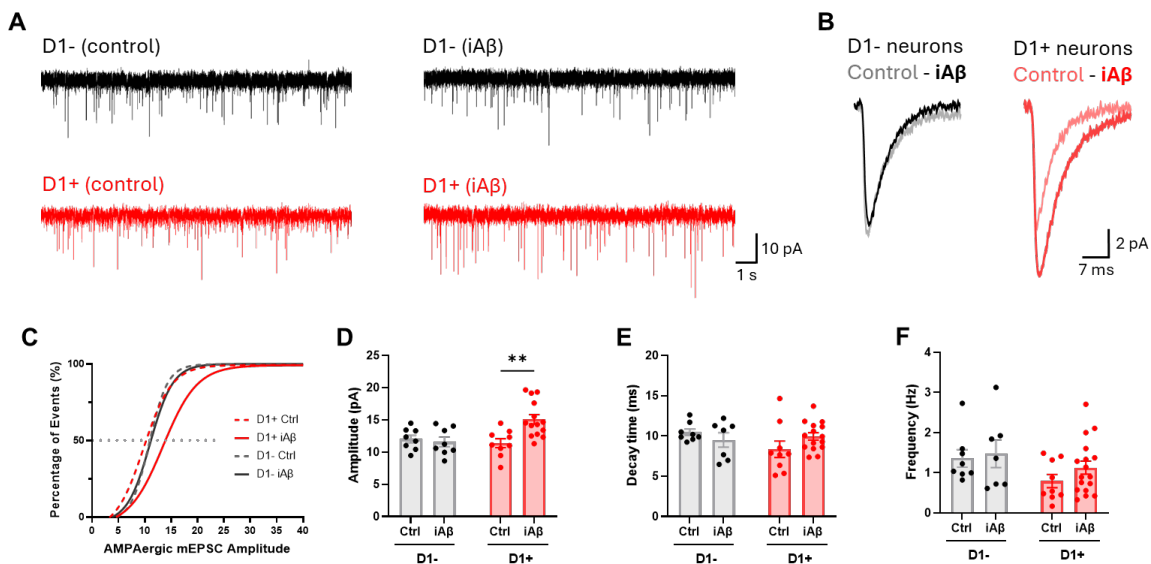


Figura 19. La diálisis intracelular de A β incrementa selectivamente la amplitud de mEPSCs mediadas por AMPAR en D1R+ MSNs del nAc

(A) Trazos representativos de corrientes postsinápticas excitatorias en miniatura mediadas por AMPAR (mEPSCs) registradas en D1R+ MSNs (panel superior) y (panel

inferior). (B) Eventos promedio representativos de mEPSCs en neuronas D1R- MSNs (negro) y D1R+ MSNs (rojo). (C) Distribuciones acumulativas de probabilidad de la amplitud de mEPSCs mediadas por AMPAR para todos los eventos analizados. (D) Cuantificación de la amplitud media de mEPSCs que muestra un incremento significativo selectivo en D1R+ MSNs tras la diálisis intracelular de A β (ANOVA de dos vías seguido de corrección post hoc de Bonferroni, $p = 0.0038$). (E) Análisis del tiempo de decaimiento (decay time) que no muestra diferencias significativas entre los grupos. (F) Cuantificación de la frecuencia de mEPSCs que tampoco muestra diferencias significativas entre las condiciones experimentales. Los datos se presentan como media \pm SEM. Cada punto representa una neurona registrada. $n = 8$ animales.

Estos resultados sugieren que la presencia intraneuronal de oligómeros de A β es suficiente para modular la transmisión AMPAérgica de manera selectiva en D1+ MSNs, estableciendo un vínculo causal entre iA β y la alteración sináptica observada en modelos transgénicos APP/PS1 y APP/PS1^{D1Tom}. De igual manera, la ausencia de cambios en la frecuencia de los eventos indica que los efectos de iA β estarían mediados predominantemente por mecanismos postsinápticos, en concordancia con los hallazgos descritos previamente.

7. Discusión

Aunque la EA ha sido estudiada predominantemente en circuitos corticales e hipocampales, con el fin de comprender los mecanismos asociados a la pérdida de memoria y el daño cognitivo que es observado en etapas avanzadas de la enfermedad, el presente estudio identifica una disrupción temprana y específica de un tipo celular en la plasticidad sináptica del nAc durante etapas pre-placa de la patología asociada a A β . El principal hallazgo que reporta esta tesis es la selectiva alteración de la plasticidad sináptica, específicamente la LTD, en D1R+ MSNs del nAc, asociado a cambios en la remodelación y señalización de AMPARs, y ocurren en ausencia de placas amiloides extracelulares (Fig. 20). En conjunto, estos resultados indican que las etapas tempranas de la EA involucran una vulnerabilidad selectiva de mecanismos sinápticos D1+ MSNs del nAc, apoyando la idea de que las manifestaciones no cognitivas emergen a partir de un desbalance a nivel sináptico circuitual antes de la aparición del deterioro cognitivo evidente, en comparación con estudios previos.

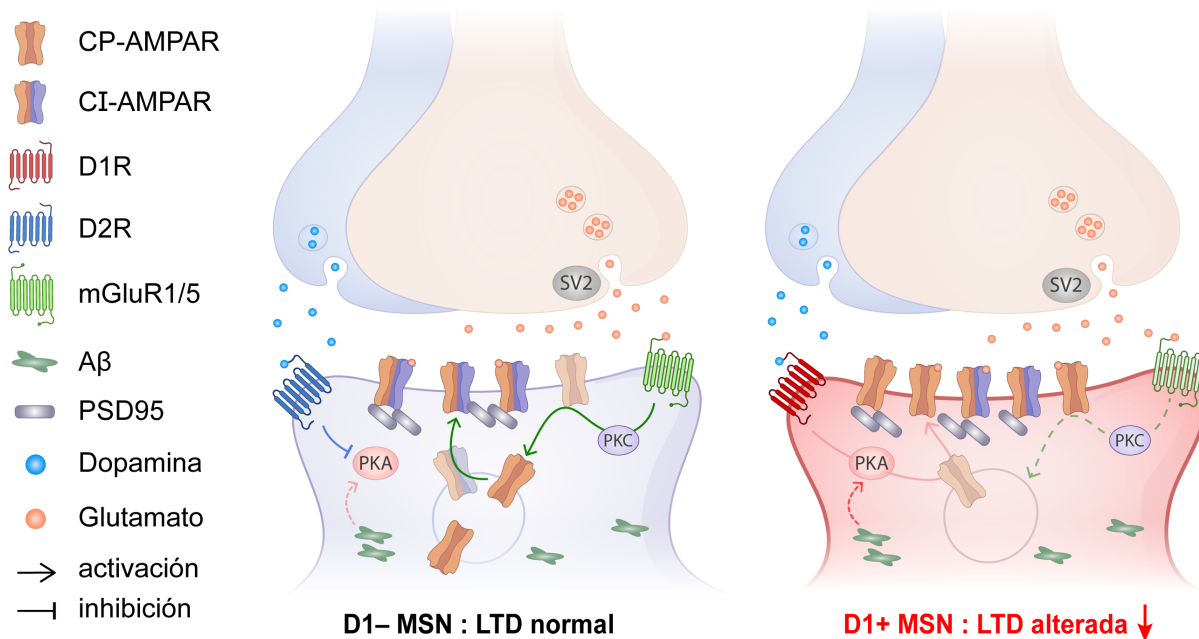


Figura 20: Modelo mecanístico propuesto que subyace al deterioro selectivo de la plasticidad sináptica en el núcleo accumbens durante las etapas tempranas de la enfermedad de Alzheimer

El modelo esquemático ilustra la integración de fibras presinápticas glutamatérgicas y dopaminérgicas en las MSNs del nAc durante etapas pre-placa de la EA, cuando A β intracelular está presente y hay ausencia de placas extracelulares. En las D1-MSNs (izquierda, morado; putativamente D2+ MSNs), la plasticidad sináptica se conserva a pesar de la acumulación de A β intracelular, consistente con una señalización intacta de mGluR1/5 y una participación presumiblemente reducida de las vías dependientes de PKA. En contraste, las D1+ MSNs (derecha, rojo) exhiben una LTD dependiente de mGluR1/5 deteriorada, lo que conduce a una endocitosis deficiente de AMPARs y a la persistencia funcional de CP-AMPARs. La reducción del tono dopaminérgico podría debilitar preferencialmente la señalización dependiente de D1R, permitiendo que el A β intracelular promueva la estabilización de AMPARs dependiente de PKA, potencialmente facilitada por un aumento de PSD-95. Además, utilizando un modelo de diálisis aguda intraneuronal de A β se confirmó un incremento en excitabilidad y transmisión sináptica excitatoria mediada por AMPARs selectivamente en D1+ MSNs.

La Enfermedad de Alzheimer y alteraciones en estructuras límbicas.

La EA es cada vez más reconocida como un trastorno que altera redes neuronales distribuidas mucho antes de que el deterioro de la memoria sea clínicamente evidente (Baez et al., 2023; Scaduto et al., 2023). Evidencia clínica y experimental creciente indica que los síntomas no cognitivos frecuentemente emergen en etapas tempranas de la enfermedad y se asocian con alteraciones en circuitos límbicos y relacionados con la recompensa (Frank et al., 2025; Masters, 2015; Zufferey et al., 2020). Estas

manifestaciones tempranas sugieren que estructuras subcorticales involucradas en el procesamiento motivacional y afectivo participan en fases iniciales de la patología; sin embargo, los mecanismos sinápticos y celulares que subyacen a esta vulnerabilidad temprana permanecen insuficientemente caracterizados (Krashia, Nobili, et al., 2019; Riffo-Lepe et al., 2025)

El nAc constituye un centro integrador crítico del sistema mesolímbico y desempeña un rol clave en el procesamiento motivacional y de la recompensa (Floresco, 2015; Vieitas-Gaspar et al., 2025), lo que lo posiciona como una estructura relevante para la aparición de fenotipos tempranos de la enfermedad. En humanos, se ha descrito atrofia del nAc en pacientes con Alzheimer y esta se correlaciona con el rendimiento cognitivo, mientras que estudios epidemiológicos indican que condiciones inflamatorias sistémicas se asocian con un mayor riesgo de desarrollar la enfermedad y con una reducción de la conectividad funcional entre el nAc y regiones corticales involucradas en la toma de decisiones y el control inhibitorio (Contreras et al., 2020; Nie et al., 2017). A pesar de estas observaciones, el nAc ha permanecido relativamente poco explorado en modelos experimentales de Alzheimer. Al enfocarse en esta región durante etapas pre-placa, el presente estudio aborda esta brecha y respalda la noción de que la patología temprana de Alzheimer no puede explicarse únicamente por disfunción hipocampal y cortical.

Efectos selectivos en D1+ MSNs del nAc.

Un hallazgo central de este trabajo es la disrupción progresiva y selectiva de la LTD en las D1+ MSNs del nAc durante las etapas tempranas de la enfermedad, en términos de la acumulación de $iA\beta$, la ausencia de placas extracelulares de $A\beta$, y el número de células microgliales normal.

Mientras que la LTD se mantiene normal a los 3 meses de edad, se encuentra marcadamente disminuida a los 6 meses, sugiriendo una pérdida gradual de plasticidad sináptica a medida que progresa la patología. Algo notable fue que, aunque la acumulación intraneuronal de A β fue comparable entre D1+ y D1- MSNs, la alteración de la LTD se observó exclusivamente en las neuronas D1+. Esta disociación sugiere que la acumulación intraneuronal de A β por sí sola no es suficiente para explicar la pérdida de plasticidad sináptica. Más bien, nuestros datos apoyan la idea de que características intrínsecas asociadas a la identidad del subtipo neuronal determinan la respuesta celular frente a A β y confieren vulnerabilidad selectiva a nivel sináptico. Esto está en línea con estudios recientes que muestran que el procesamiento de APP y la generación de A β , además de su estructura y sus efectos dependen del tipo celular. Regiones cerebrales que contienen principalmente neuronas glutamatérgicas darían lugar a la formación de placas y gliosis mientras que regiones del cerebro que contienen principalmente neuronas gabaérgicas (como el nAc) presentarían un fenotipo resiliente a la patología extracelular, mostrando acumulación intracelular difusa (Moreira et al., 2025; Perez et al., 2026).

La vulnerabilidad selectiva de las D1+ MSNs observada en este estudio es consistente con hallazgos provenientes de modelos de adicción y abstinencia, en los cuales la plasticidad sináptica y el remodelamiento de AMPARs se alteran preferentemente en las D1+ MSNs del nAc (Hwang et al., 2025; Wong et al., 2022). Estas observaciones sugieren que distintas condiciones patológicas podrían converger en mecanismos compartidos que desestabilizan selectivamente la regulación sináptica en esta población neuronal. En apoyo a esta idea, se ha demostrado que la restricción alimentaria en ratones reduce la liberación de dopamina en el nAc, induciendo alteraciones compensatorias en la

señalización dependiente de receptores de dopamina D1 que promueven el remodelamiento de AMPARs hacia la acumulación de CP-AMPARs, aumentando la conducta de búsqueda de recompensa en comparación con condiciones de alimentación *ad libitum* (Italia et al., 2025). Este estudio refuerza la idea de que las D1+ MSNs representan un sitio común de vulnerabilidad sináptica en condiciones caracterizadas por un tono dopaminérgico alterado y pérdida de la homeostasis excitatoria.

La presencia de iA β es la causal para el deterioro celular.

Los experimentos presentados en esta tesis permiten además avanzar desde una relación meramente asociativa hacia una interpretación causal de estos fenómenos. En particular, la diálisis intracelular de A β reprodujo alteraciones observadas en el modelo transgénico, incluyendo un aumento en la proporción de AMPARs y un incremento en la excitabilidad neuronal. De manera consistente con los resultados obtenidos en el modelo APP/PS1, estos efectos se observaron selectivamente en neuronas D1+. Este hallazgo sugiere que A β puede actuar directamente sobre mecanismos postsinápticos para inducir remodelación de receptores AMPA y alterar las propiedades intrínsecas de excitabilidad en esta población neuronal específica. Sin embargo, algunos aspectos metodológicos deben considerarse para fortalecer la interpretación causal de estos resultados. Aunque la perfusión intracelular de A β reproduce los cambios observados en el modelo transgénico, la incorporación de controles adicionales, como la utilización de la secuencia reversa de A β , sería altamente informativa para confirmar que los efectos observados sobre excitabilidad y remodelación de AMPARs dependen específicamente de las propiedades estructurales del péptido A β y no de efectos inespecíficos asociados a la introducción intracelular de péptidos, aunque previamente en nuestro laboratorio ya

hemos caracterizado la diálisis intraneuronal de oligómeros de A β en neuronas hipocámpales, y no se han observado alteraciones utilizando tanto A β reverso como A β denaturado (Fernandez-Perez et al., 2021). De igual manera, datos no publicados de nuestro laboratorio, también han mostrado que A β reverso (el cual no genera oligómeros) aplicado intraneuronalmente no afecta las corrientes AMPAérgicas evocadas de MSNs del nAc de ratones WT, mientras que una preparación de iA β enriquecida en oligómeros aumenta significativamente las corrientes evocadas por AMPA (Datos tesis pregrado Nicolas Riffo, 2019)

Rol de los receptores AMPA en la alteración dinámica.

Nuestros datos identifican al remodelamiento aberrante de subunidades de AMPAR como una alteración sináptica prominente asociada a la pérdida de la LTD en las MSNs que expresan el receptor de dopamina D1. El aumento de la rectificación de entrada, la mayor sensibilidad a NASPM, la reducción de la razón AMPAR/NMDAR medida a +40 mV y el aumento del componente de Ca²⁺ dependiente de AMPAR revelado mediante imágenes basadas en el sensor de calcio GCaMP6s apoyan en conjunto un enriquecimiento funcional de CP-AMPARs en las sinapsis accumbales de ratones APP/PS1. Es importante destacar que, aunque tanto la LTD eléctricamente inducida por HFS como la LTD químicamente inducida por el agonista de mGluR1/5 estuvieron alteradas a los 6 meses de edad en ratones APP/PS1, los análisis con identificación del tipo celular en animales APP/PS1^{D1Tom} indican que estas alteraciones sinápticas se expresan selectivamente en las D1+ MSNs, identificando a esta población neuronal como un sustrato principal de los déficits tempranos de plasticidad en el nAc.

La alteración de los CP-AMPARs en las D1+ MSNs durante etapas pre-placa probablemente refleja disrupciones convergentes en la señalización glutamatérgica y dopaminérgica. Un factor contribuyente podría ser el deterioro de la plasticidad sináptica dependiente de mGluR1/5, la cual en condiciones fisiológicas restringe la fuerza excitatoria promoviendo la endocitosis de AMPARs y el intercambio de subunidades, favoreciendo así la remoción de CP-AMPARs carentes de GluA2 y la estabilización de AMPARs que contienen GluA2 y presentan menor conductancia (Mango & Ledonne, 2023). En este contexto, el enriquecimiento sináptico persistente de CP-AMPARs observado en las D1+ MSNs es consistente con una plasticidad dependiente de mGluR1/5 comprometida. En apoyo a esta interpretación, el bloqueo farmacológico de los CP-AMPARs fue suficiente para desenmascarar la depresión sináptica dependiente de mGluR1/5 en las D1+ MSNs, lo que indica que la retención anómala de CP-AMPARs interfiere funcionalmente con la expresión de esta forma de LTD más que actuar como su causa primaria.

Estos hallazgos concuerdan con formas de disfunción de la plasticidad sináptica descritas en otros contextos patológicos. En modelos de adicción, la acumulación de CP-AMPARs en las MSNs accumbales también se asocia con una alteración de la LTD dependiente de mGluR1/5 y con una persistente conducta de búsqueda de recompensa (Kawa et al., 2022; Wong et al., 2022). En el contexto de la enfermedad de Alzheimer, Valdivia et al. reportaron una disminución dependiente de la edad de la LTD hipocampal dependiente de mGluR en ratones APP/PS1 usando registros de campo extracelulares en sinapsis CA3–CA1, con preservación a los 2 meses y una marcada reducción a los 8 meses de edad (Valdivia et al., 2023). Sobre la base de estas observaciones, el presente estudio combina registros intracelulares con identificación genética de tipo celular para demostrar

que la disfunción de la mGluR-LTD emerge más tempranamente en una estructura mesolímbica y se expresa selectivamente en las D1+ MSNs, donde coincide con la incorporación sináptica persistente de CP-AMPA. En conjunto, estos resultados enfatizan que la expresión de déficits de plasticidad dependiente de mGluR1/5 en la EA está fuertemente determinada por el contexto circuital, la etapa de la enfermedad y el subtipo neuronal (Riffo-Lepe et al., 2025)

La vulnerabilidad selectiva de las D1+ MSNs podría explicarse en parte por su fuerte dependencia del tono dopaminérgico. Los receptores D1 presentan menor afinidad por la dopamina que los receptores D2, lo que vuelve a las D1+ MSNs particularmente sensibles a reducciones en la disponibilidad de dopamina (Gerlach et al., 2003; Richfield et al., 1989). En concordancia con este marco, datos de nuestro laboratorio indican una reducción de la señalización dependiente de dopamina en el nAc a los 6 meses de edad utilizando un sensor dopaminérgico genéticamente codificado (Riffo-Lepe et al., 2026). Estos hallazgos son consistentes con reportes previos que muestran que la liberación de dopamina en el nAc ya se encuentra disminuida durante etapas pre-placa en ratones APP^{swe}, junto con cambios compensatorios en la expresión del transportador de dopamina (Nobili et al., 2017). Aunque los hallazgos indicados no permiten discriminar entre un deterioro de la liberación presináptica, una disfunción de terminales dopaminérgicos o alteraciones tempranas en la integridad de neuronas dopaminérgicas del VTA, cualquier reducción en la disponibilidad de dopamina sería esperable que debilitara de manera desproporcionada la señalización mediada por receptores de dopamina D1.

Esta hipoactividad dopaminérgica podría converger con alteraciones postsinápticas gatilladas por A β para desestabilizar la función de la vía directa durante etapas tempranas de la enfermedad de Alzheimer. En apoyo a esta idea, Whitcomb et al. demostraron que la perfusión intracelular de oligómeros de A β en neuronas hipocampales incrementa rápidamente la expresión superficial de GluA1 (subunidad que forma homotetrámeros que permiten el paso de calcio) y promueve la inserción de CP-AMPARs mediante un mecanismo dependiente de la activación de PKA (Whitcomb et al., 2015). Dado que los receptores de dopamina de tipo D1 al ser activados inducen un aumento en el cAMP y la concomitante activación de PKA, una reducción del tono dopaminérgico podría, por tanto, debilitar el acoplamiento fisiológico D1R–PKA, generando condiciones en las que A β intraneuronal active de manera aberrante la señalización de PKA para impulsar la inserción de GluA1 en membrana, mientras que la señalización vía D2R suprime la actividad de la adenilato ciclasa, disminuyendo cAMP y limita la activación de PKA (Beaulieu & Gainetdinov, 2011), pudiendo restringir potencialmente una activación de PKA por A β en las D1– MSNs, contribuyendo a su relativa resiliencia. En conjunto, una endocitosis de AMPARs dependiente de mGluR1/5 deteriorada y la inserción de GluA1 asociada a A β llevarían a las sinapsis hacia un enriquecimiento persistente de CP-AMPARs, proporcionando un marco mecanístico para la pérdida selectiva de LTD observada en las D1+ MSNs durante etapas tempranas de la EA.

En concordancia con los presentes hallazgos, Aguado et al. reportaron un aumento en la expresión de CP-AMPARs en el hipocampo de ratones APPswe en etapas avanzadas de la enfermedad, particularmente en animales que exhibían un fenotipo vulnerable (Aguado et al., 2024). De manera notable, la expresión de mGluR5 se encontró selectivamente reducida en los ratones APPswe vulnerables, pero preservada en animales resilientes,

en paralelo con la normalización de los niveles de CP-AMPARs (Aguado et al., 2024). Estas observaciones sugieren que la regulación coordinada de la señalización mGluR1/5 y de la composición de CP-AMPARs podría modular la vulnerabilidad sináptica a través de distintas etapas de la enfermedad y regiones cerebrales. Complementando esta idea, Guo et al. demostraron que la exposición aguda extracelular a oligómeros sintéticos de A β en el nAc de ratones WT de 2 meses induce la incorporación sináptica de CP-AMPARs, conduciendo a pérdida de espinas, debilitamiento sináptico y déficits motivacionales (Guo et al., 2022). Es importante notar que ese modelo refleja una patología impulsada por A β extracelular y afecta preferentemente a las MSNs D2R, en contraste con nuestros hallazgos que muestran que la acumulación endógena e intraneuronal de A β durante etapas tempranas se asocia con una incorporación selectiva de CP-AMPARs en las D1+ MSNs. Además, se reconoce que A β extracelularmente activa a mGluRs de la familia I (mGluR1 y mGluR5), produciendo una desestabilización de receptores NMDA y falla sináptica (Abd-Elrahman & Ferguson, 2022). En esta línea, una hipótesis plausible podría incluir alteraciones tempranas durante la acumulación intracelular de A β , donde la activación de PKA y el aumento de CP-AMPARs en D1+ MSNs generaría una potenciación del circuito accumbal, mientras que en etapas avanzadas, el aumento de A β extracelular produciría falla sináptica asociado a efectos sobre las D2 MSNs mediado en parte por la modulación de mGluR5 (Abd-Elrahman & Ferguson, 2022).

En conjunto, estos estudios apoyan la desregulación de CP-AMPARs como un mecanismo convergente que contribuye a la disfunción sináptica a través de distintas etapas de la enfermedad, al tiempo que enfatizan que el contexto celular y la localización subcelular de A β determinan de manera crítica sus consecuencias sinápticas.

Potenciales limitaciones de los modelos usados.

Al interpretar estos hallazgos deben considerarse algunas limitaciones. Primero, todos los experimentos se realizaron exclusivamente en ratones de sexo macho, lo que impide evaluar mecanismos específicos de sexo. Esta limitación es particularmente relevante dado que existe evidencia creciente de que la señalización por estradiol modula fuertemente la plasticidad sináptica dentro del núcleo accumbens (Copenhaver & LeGates, 2024; Peterson et al., 2016). Se ha demostrado que el estradiol, actuando a través de vías dependientes de mGluR5 y endocannabinoides, remodela circuitos accumbales de recompensa y aumenta la sensibilidad a psicoestimulantes, subrayando una estrecha interacción entre el estado hormonal y la plasticidad mesolímbica (Peterson et al., 2016). Además, un estudio reciente mostró que la plasticidad sináptica dentro del nAc depende de vías moleculares distintas en machos y hembras, a pesar de resultados comparables. Por ejemplo, Copenhaver y LeGates demostraron que la potenciación a largo plazo en sinapsis hipocampo–núcleo accumbens depende de señalización de calcio mediada por NMDARs en machos, pero de canales de calcio tipo L y de señalización mediada por receptor de estrógeno α en hembras (Copenhaver & LeGates, 2024). Segundo, aunque nuestros datos revelan una asociación robusta entre la acumulación intraneuronal de A β y las alteraciones sinápticas, el modelo APP/PS1 no permite atribuir de forma definitiva estos efectos exclusivamente a A β . Sin embargo, evidencia convergente apoya un rol directo de A β intraneuronal en la modulación de la función sináptica excitatoria. Fernández-Pérez et al. demostraron que A β intraneuronal aumenta la sincronización neuronal y la transmisión mediada por AMPARs (Fernandez-Perez et al., 2021), mientras que Saavedra et al. reportaron niveles aumentados de A β intraneuronal junto con corrientes mediadas por CP-AMPARs incrementadas en cultivos

de MSNs del nAc derivados de ratones APP/PS1 (Saavedra-Sieyes et al., 2025). En conjunto, estas observaciones respaldan un rol contribuyente de A β intraneuronal en las alteraciones sinápticas descritas aquí, al tiempo que enfatizan la necesidad de estudios futuros que incorporen el sexo como variable biológica y empleen estrategias que permitan manipular selectivamente A β intraneuronal para establecer relaciones causales.

Implicancias y direcciones futuras

En este trabajo doctoral demostramos que las MSNs del nAc representan un blanco especialmente vulnerable en etapas iniciales de la patología en modelos murinos de la EA. De manera interesante, las MSNs que contienen el receptor de dopamina de tipo D1 son vulnerables a los efectos de la acumulación intraneuronal de A β , mientras que las neuronas de tipo D1- (putativamente neuronas que expresan el receptor de dopamina tipo D2) presentan un grado de resiliencia al desarrollo de hiperexcitabilidad e incremento de su fuerza sináptica. Además, se logra identificar a los CP-AMPARs como un posible blanco terapéutico importante durante el desarrollo temprano de la patología. En este sentido, investigaciones recientes han reportado que la memantina, un fármaco que inhibe los receptores de glutamato de tipo NMDA y que son importantemente afectados en etapas avanzadas de la enfermedad de Alzheimer, también inhibe los CP-AMPARs (Carrillo et al., 2025), abriendo nuevas puertas al desarrollo de fármacos que puedan ser específicos para CP-AMPARs a partir de la modificación de la memantina, y agudizar los efectos de esta droga, que actualmente solo retrasa el avance de la patología en pacientes con EA en etapas avanzadas.

8. Conclusiones

En conclusión, este estudio identifica alteraciones sinápticas tempranas en las que la acumulación intraneuronal de A β se asocia con una composición alterada de subunidades AMPARs asociado a una alteración selectiva de la LTD en D1+ MSNs antes de la deposición extracelular de placas de A β . En conjunto, estos hallazgos apoyan la idea de que las manifestaciones no cognitivas tempranas de la enfermedad de Alzheimer reflejan un desbalance a nivel de circuitos específicos más que una neurodegeneración tardía durante la pérdida cognitiva. Al identificar al nAc como un sitio temprano de vulnerabilidad, este trabajo resalta la importancia de la identidad del subtipo neuronal y del contexto de señalización en la susceptibilidad a la disfunción sináptica asociada a A β intraneuronal.

9. Bibliografía

- Abd-Elrahman, K. S., & Ferguson, S. S. G. (2022). Noncanonical Metabotropic Glutamate Receptor 5 Signaling in Alzheimer's Disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*, 62, 235-254. <https://doi.org/10.1146/annurev-pharmtox-021821-091747>
- Abyadeh, M., Gupta, V., Paulo, J. A., Mahmoudabad, A. G., Shadfar, S., Mirshahvaladi, S., Gupta, V., Nguyen, C. T. O., Finkelstein, D. I., You, Y., Haynes, P. A., Salekdeh, G. H., Graham, S. L., & Mirzaei, M. (2024). Amyloid-beta and tau protein beyond Alzheimer's disease [Review]. *Neural Regen Res*, 19(6), 1262-1276. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.386406>
- Aguado, C., Badesso, S., Martinez-Hernandez, J., Martin-Belmonte, A., Alfaro-Ruiz, R., Fernandez, M., Moreno-Martinez, A. E., Cuadrado-Tejedor, M., Garcia-Osta, A., & Lujan, R. (2024). Resilience to structural and molecular changes in excitatory synapses in the hippocampus contributes to cognitive function recovery in Tg2576 mice [Research Article]. *Neural Regen Res*, 19(9), 2068-2074. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.390963>
- Aguayo, S., Schuh, C., Vicente, B., & Aguayo, L. G. (2018). Association between Alzheimer's Disease and Oral and Gut Microbiota: Are Pore Forming Proteins the Missing Link? *J Alzheimers Dis*, 65(1), 29-46. <https://doi.org/10.3233/JAD-180319>
- Alcantara-Gonzalez, D., Kennedy, M., Criscuolo, C., Botterill, J., & Scharfman, H. E. (2025). Increased excitability of dentate gyrus mossy cells occurs early in life in the Tg2576 model of Alzheimer's disease [Research Article]. *Alzheimers Res Ther*, 17(1), 105. <https://doi.org/10.1186/s13195-025-01747-1>
- Baez, S., Trujillo-Llano, C., de Souza, L. C., Lillo, P., Forno, G., Santamaria-Garcia, H., Okuma, C., Alegria, P., Huepe, D., Ibanez, A., Decety, J., & Slachevsky, A. (2023). Moral Emotions and Their Brain Structural Correlates Across Neurodegenerative Disorders. *J Alzheimers Dis*, 92(1), 153-169. <https://doi.org/10.3233/JAD-221131>
- Bayassi-Jakowicka, M., Lietzau, G., Czuba, E., Patrone, C., & Kowianski, P. (2022). More than Addiction-The Nucleus Accumbens Contribution to Development of Mental Disorders and Neurodegenerative Diseases. *Int J Mol Sci*, 23(5). <https://doi.org/10.3390/ijms23052618>
- Beaulieu, J. M., & Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of dopamine receptors. *Pharmacol Rev*, 63(1), 182-217. <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>
- Blanchard, V., Moussaoui, S., Czech, C., Touchet, N., Bonici, B., Planche, M., Canton, T., Jedidi, I., Gohin, M., Wirths, O., Bayer, T. A., Langui, D., Duyckaerts, C., Tremp, G., & Pradier, L. (2003). Time sequence of maturation of dystrophic neurites associated with Abeta deposits in APP/PS1 transgenic mice. *Exp Neurol*, 184(1), 247-263. [https://doi.org/10.1016/s0014-4886\(03\)00252-8](https://doi.org/10.1016/s0014-4886(03)00252-8)
- Blennow, K., de Leon, M. J., & Zetterberg, H. (2006). Alzheimer's disease. *Lancet*, 368(9533), 387-403. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(06\)69113-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(06)69113-7)
- Blomeke, L., Rehn, F., Kraemer-Schulien, V., Kutzsche, J., Pils, M., Bujnicki, T., Lewczuk, P., Kornhuber, J., Freiesleben, S. D., Schneider, L. S., Preis, L., Priller, J., Spruth, E. J., Altenstein, S., Lohse, A., Schneider, A., Fliessbach, K., Wiltfang, J., Hansen, N.,...Peters, O. (2024). Abeta oligomers peak in early stages of Alzheimer's disease preceding tau pathology [Research Article]. *Alzheimers Dement (Amst)*, 16(2), e12589. <https://doi.org/10.1002/dad2.12589>
- Cacciaglia, R., Falcon, C., Benavides, G. S., Brugulat-Serrat, A., Aloma, M. M., Calvet, M. S., Molinuevo, J. L., Fauria, K., Minguillon, C., Kollmorgen, G., Quijano-Rubio, C., Blennow, K., Zetterberg, H., Lorenzini, L., Wink, A. M., Ingala, S., Barkhof, F., Ritchie, C. W., Gispert, J. D., & study, A. (2025). Soluble Abeta pathology predicts neurodegeneration and cognitive decline independently on p-tau in the earliest Alzheimer's continuum: Evidence across two

- independent cohorts [Research Article]. *Alzheimers Dement*, 21(2), e14415. <https://doi.org/10.1002/alz.14415>
- Carr, K. D. (2020). Homeostatic regulation of reward via synaptic insertion of calcium-permeable AMPA receptors in nucleus accumbens. *Physiol Behav*, 219, 112850. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112850>
- Carrillo, E., Montano Romero, A., Gonzalez, C. U., Turcu, A. L., Vazquez, S., Twomey, E. C., & Jayaraman, V. (2025). Memantine inhibits calcium-permeable AMPA receptors [Research Article]. *Nat Commun*, 16(1), 5576. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-60543-5>
- Chan, W., Singh, S., Keshav, T., Dewan, R., Eberly, C., Maurer, R., Nunez-Parra, A., & Araneda, R. C. (2017). Mice Lacking M1 and M3 Muscarinic Acetylcholine Receptors Have Impaired Odor Discrimination and Learning. *Front Synaptic Neurosci*, 9, 4. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2017.00004>
- Cody, K. A., Du, L., Studer, R. L., Jonaitis, E. M., Asthana, S., Christian, B. T., Chin, N. A., Kirmess, K. M., Meyer, M. R., Yarasheski, K. E., West, T., Verghese, P. B., Braunstein, J. B., Betthausen, T. J., Langhough, R. E., & Johnson, S. C. (2025). Accuracy of plasma biomarkers to detect Alzheimer's disease proteinopathy prior to dementia [Research Article]. *Alzheimers Dement*, 21(3), e14570. <https://doi.org/10.1002/alz.14570>
- Conrad, K. L., Tseng, K. Y., Uejima, J. L., Reimers, J. M., Heng, L. J., Shaham, Y., Marinelli, M., & Wolf, M. E. (2008). Formation of accumbens GluR2-lacking AMPA receptors mediates incubation of cocaine craving. *Nature*, 454(7200), 118-121. <https://doi.org/10.1038/nature06995>
- Contreras, J. A., Aslanyan, V., Sweeney, M. D., Sanders, L. M. J., Sagare, A. P., Zlokovic, B. V., Toga, A. W., Han, S. D., Morris, J. C., Fagan, A., Massoumzadeh, P., Benzinger, T. L., & Pa, J. (2020). Functional connectivity among brain regions affected in Alzheimer's disease is associated with CSF TNF-alpha in APOE4 carriers. *Neurobiol Aging*, 86, 112-122. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2019.10.013>
- Copenhaver, A. E., & LeGates, T. A. (2024). Sex-Specific Mechanisms Underlie Long-Term Potentiation at Hippocampus->Medium Spiny Neuron Synapses in the Medial Shell of the Nucleus Accumbens. *J Neurosci*, 44(27). <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0100-24.2024>
- Cull-Candy, S. G., & Farrant, M. (2021). Ca(2+) -permeable AMPA receptors and their auxiliary subunits in synaptic plasticity and disease. *J Physiol*, 599(10), 2655-2671. <https://doi.org/10.1113/JP279029>
- D'Amelio, M., & Nistico, R. (2018). Unlocking the secrets of dopamine in Alzheimer's Disease. *Pharmacol Res*, 128, 399. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2017.06.018>
- D'Amelio, M., Puglisi-Allegra, S., & Mercuri, N. (2018). The role of dopaminergic midbrain in Alzheimer's disease: Translating basic science into clinical practice. *Pharmacol Res*, 130, 414-419. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2018.01.016>
- de Jong, L. W., Wang, Y., White, L. R., Yu, B., van Buchem, M. A., & Launer, L. J. (2012). Ventral striatal volume is associated with cognitive decline in older people: a population based MR-study. *Neurobiol Aging*, 33(2), 424 e421-410. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.09.027>
- DeTure, M. A., & Dickson, D. W. (2019). The neuropathological diagnosis of Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 14(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s13024-019-0333-5>
- Devinsky, O. (2026). Alzheimer's disease and epileptic activity: uncertainties abound. *Lancet Neurol*. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(25\)00496-X](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(25)00496-X)
- Diering, G. H., & Haganir, R. L. (2018). The AMPA Receptor Code of Synaptic Plasticity. *Neuron*, 100(2), 314-329. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2018.10.018>
- Dubois, B., Villain, N., Schneider, L., Fox, N., Campbell, N., Galasko, D., Kivipelto, M., Jessen, F., Hanseeuw, B., Boada, M., Barkhof, F., Nordberg, A., Froelich, L., Waldemar, G., Frederiksen, K. S., Padovani, A., Planche, V., Rowe, C., Bejanin, A.,...Frisoni, G. B. (2024). Alzheimer Disease as a Clinical-Biological Construct-An International Working Group Recommendation

- [Research Article]. *JAMA Neurol*, 81(12), 1304-1311. <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2024.3770>
- Ebrahimi, R., Golzari, Z., Heidari-Faroozan, M., Khosravi, A., Ghaheer Sharghi, S., Saleh, M., Salarvandian, S., & Esmailpour, K. (2025). Impaired Synaptic Plasticity Mechanisms in Alzheimer's Disease [Review]. *Metab Brain Dis*, 40(7), 277. <https://doi.org/10.1007/s11011-025-01712-9>
- Fernández-Pérez, E. J., Gallegos, S., Armijo-Weingart, L., Araya, A., Riffo-Lepe, N. O., Cayuman, F., & Aguayo, L. G. (2020). Changes in neuronal excitability and synaptic transmission in nucleus accumbens in a transgenic Alzheimer's disease mouse model. *Sci Rep*, 10(1), 19606. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76456-w>
- Fernandez-Perez, E. J., Munoz, B., Bascunan, D. A., Peters, C., Riffo-Lepe, N. O., Espinoza, M. P., Morgan, P. J., Filippi, C., Bourboulou, R., Sengupta, U., Kayed, R., Epsztein, J., & Aguayo, L. G. (2021). Synaptic dysregulation and hyperexcitability induced by intracellular amyloid beta oligomers. *Aging Cell*, 20(9), e13455. <https://doi.org/10.1111/ace1.13455>
- Floresco, S. B. (2015). The nucleus accumbens: an interface between cognition, emotion, and action. *Annu Rev Psychol*, 66, 25-52. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010213-115159>
- Frank, P., Singh-Manoux, A., Pentti, J., Batty, G. D., Sommerlad, A., Steptoe, A., Livingston, G., Howard, R., & Kivimaki, M. (2025). Specific midlife depressive symptoms and long-term dementia risk: a 23-year UK prospective cohort study [Research Article]. *Lancet Psychiatry*. [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(25\)00331-1](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(25)00331-1)
- Garcia-Alloza, M., Robbins, E. M., Zhang-Nunes, S. X., Purcell, S. M., Betensky, R. A., Raju, S., Prada, C., Greenberg, S. M., Bacskai, B. J., & Frosch, M. P. (2006). Characterization of amyloid deposition in the APPswe/PS1dE9 mouse model of Alzheimer disease. *Neurobiol Dis*, 24(3), 516-524. <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2006.08.017>
- Gerlach, M., Double, K., Arzberger, T., Leblhuber, F., Tatschner, T., & Riederer, P. (2003). Dopamine receptor agonists in current clinical use: comparative dopamine receptor binding profiles defined in the human striatum. *J Neural Transm (Vienna)*, 110(10), 1119-1127. <https://doi.org/10.1007/s00702-003-0027-5>
- Gleichgerricht, E., Ibanez, A., Roca, M., Torralva, T., & Manes, F. (2010). Decision-making cognition in neurodegenerative diseases. *Nat Rev Neurol*, 6(11), 611-623. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2010.148>
- Guo, C., & Ma, Y. Y. (2021). Calcium Permeable-AMPA Receptors and Excitotoxicity in Neurological Disorders. *Front Neural Circuits*, 15, 711564. <https://doi.org/10.3389/fncir.2021.711564>
- Guo, C., Wen, D., Zhang, Y., Mustaklem, R., Mustaklem, B., Zhou, M., Ma, T., & Ma, Y. Y. (2022). Amyloid-beta oligomers in the nucleus accumbens decrease motivation via insertion of calcium-permeable AMPA receptors. *Mol Psychiatry*, 27(4), 2146-2157. <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01459-0>
- Haass, C., & Selkoe, D. J. (2007). Soluble protein oligomers in neurodegeneration: lessons from the Alzheimer's amyloid beta-peptide. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 8(2), 101-112. <https://doi.org/10.1038/nrm2101>
- Henley, J. M., & Wilkinson, K. A. (2016). Synaptic AMPA receptor composition in development, plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci*, 17(6), 337-350. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.37>
- Huganir, R. L., & Nicoll, R. A. (2013). AMPARs and synaptic plasticity: the last 25 years. *Neuron*, 80(3), 704-717. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2013.10.025>
- Hwang, E.-K., Wunsch, A. M., & Wolf, M. E. (2025). Retinoic acid-mediated homeostatic plasticity drives cell type-specific CP-AMPA accumulation in nucleus accumbens core and incubation of cocaine craving [Research Article]. *Molecular Psychiatry*, 30(7), 3175-3187. <https://doi.org/10.1038/s41380-025-03026-9>

- Italia, M., Scheggia, D., DiLuca, M., & Gardoni, F. (2025). What's in your plate?AMPA receptors modulation at the crossroads of homeostatic and hedonic eating [Review]. *Pharmacol Res*, 217, 107821. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2025.107821>
- Kauer, J. A., & Malenka, R. C. (2007). Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci*, 8(11), 844-858. <https://doi.org/10.1038/nrn2234>
- Kawa, A. B., Hwang, E. K., Funke, J. R., Zhou, H., Costa-Mattioli, M., & Wolf, M. E. (2022). Positive Allosteric Modulation of mGlu(1) Reverses Cocaine-Induced Behavioral and Synaptic Plasticity Through the Integrated Stress Response and Oligophrenin-1. *Biol Psychiatry*, 92(11), 871-879. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2022.05.008>
- Klawonn, A. M., & Malenka, R. C. (2018). Nucleus Accumbens Modulation in Reward and Aversion. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 83, 119-129. <https://doi.org/10.1101/sqb.2018.83.037457>
- Kolonics, A., Bori, Z., Torma, F., Abraham, D., Feher, J., & Radak, Z. (2023). Exercise combined with postbiotics treatment results in synergistic improvement of mitochondrial function in the brain of male transgenic mice for Alzheimer's disease. *BMC Neurosci*, 24(1), 68. <https://doi.org/10.1186/s12868-023-00836-x>
- Kourosh-Arami, M., Komaki, A., & Gholami, M. (2022). Addiction-induced plasticity in underlying neural circuits. *Neurol Sci*, 43(3), 1605-1615. <https://doi.org/10.1007/s10072-021-05778-y>
- Krashia, P., Cordella, A., Nobili, A., La Barbera, L., Federici, M., Leuti, A., Campanelli, F., Natale, G., Marino, G., Calabrese, V., Vedele, F., Ghiglieri, V., Picconi, B., Di Lazzaro, G., Schirinzi, T., Sancesario, G., Casadei, N., Riess, O., Bernardini, S.,...Mercuri, N. B. (2019). Blunting neuroinflammation with resolvin D1 prevents early pathology in a rat model of Parkinson's disease. *Nat Commun*, 10(1), 3945. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11928-w>
- Krashia, P., Nobili, A., & D'Amelio, M. (2019). Unifying Hypothesis of Dopamine Neuron Loss in Neurodegenerative Diseases: Focusing on Alzheimer's Disease. *Front Mol Neurosci*, 12, 123. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00123>
- LaFerla, F. M., Green, K. N., & Oddo, S. (2007). Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease. *Nat Rev Neurosci*, 8(7), 499-509. <https://doi.org/10.1038/nrn2168>
- Li, G., Hsu, L. M., Wu, Y., Bozoki, A. C., Shih, Y. I., & Yap, P. T. (2025). Revealing excitation-inhibition imbalance in Alzheimer's disease using multiscale neural model inversion of resting-state functional MRI [Research Article]. *Commun Med (Lond)*, 5(1), 17. <https://doi.org/10.1038/s43856-025-00736-7>
- Luscher, C., & Huber, K. M. (2010). Group 1 mGluR-dependent synaptic long-term depression: mechanisms and implications for circuitry and disease. *Neuron*, 65(4), 445-459. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.01.016>
- Luscher, C., & Janak, P. H. (2021). Consolidating the Circuit Model for Addiction. *Annu Rev Neurosci*, 44, 173-195. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-092920-123905>
- Magee, J. C., & Grienberger, C. (2020). Synaptic Plasticity Forms and Functions. *Annu Rev Neurosci*, 43, 95-117. <https://doi.org/10.1146/annurev-neuro-090919-022842>
- Mango, D., & Ledonne, A. (2023). Updates on the Physiopathology of Group I Metabotropic Glutamate Receptors (mGluRI)-Dependent Long-Term Depression. *Cells*, 12(12). <https://doi.org/10.3390/cells12121588>
- Masters, C. L., Bateman, R., Blennow, K., Rowe, C. C., Sperling, R. A., & Cummings, J. L. (2015). Alzheimer's disease. *Nat Rev Dis Primers*, 1, 15056. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.56>
- Masters, M., Roe. (2015). "Noncognitive" symptoms of early Alzheimer disease: a longitudinal analysis. *Neurology*, 84(6), 617-622. <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001238>
- McCutcheon, J. E., Loweth, J. A., Ford, K. A., Marinelli, M., Wolf, M. E., & Tseng, K. Y. (2011). Group I mGluR activation reverses cocaine-induced accumulation of calcium-permeable AMPA receptors in nucleus accumbens synapses via a protein kinase C-dependent mechanism. *J Neurosci*, 31(41), 14536-14541. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3625-11.2011>

- Mielke, M. M., Anderson, M., Ashford, J. W., Jeromin, A., Lin, P. J., Rosen, A., Tyrone, J., Vandevrede, L., Willis, D. R., Hansson, O., Khachaturian, A. S., Schindler, S. E., Weiss, J., Batrla, R., Bozeat, S., Dwyer, J. R., Holzapfel, D., Jones, D. R., Murray, J. F.,...Udeh-Momoh, C. T. (2024). Recommendations for clinical implementation of blood-based biomarkers for Alzheimer's disease [Research Article]. *Alzheimers Dement*, 20(11), 8216-8224. <https://doi.org/10.1002/alz.14184>
- Migeot, J., Pina-Escudero, S. D., Hernandez, H., Gonzalez-Gomez, R., Legaz, A., Fittipaldi, S., Resende, E. P. F., Duran-Aniotz, C., Avila-Funes, J. A., Behrens, M. I., Bruno, M. A., Cardona, J. F., Custodio, N., Garcia, A. M., Godoy, M. E., Hu, K., Lanata, S., Lawlor, B., Lopera, F.,...Ibanez, A. (2025). Social exposome and brain health outcomes of dementia across Latin America [Research Article]. *Nat Commun*, 16(1), 8196. <https://doi.org/10.1038/s41467-025-63277-6>
- Moreira, I. P., Vieira-Coelho, M. A., & Guimaraes, J. (2025). Dopamine System Dysfunction in Alzheimer's Disease [Review]. *Psychogeriatrics*, 25(5), e70097. <https://doi.org/10.1111/psyg.70097>
- Muñoz de Leon-Lopez, C. A., Carretero-Rey, M., & Khan, Z. U. (2025). AMPA Receptors in Synaptic Plasticity, Memory Function, and Brain Diseases [Review]. *Cell Mol Neurobiol*, 45(1), 14. <https://doi.org/10.1007/s10571-024-01529-7>
- Nestler, E. J., & Luscher, C. (2019). The Molecular Basis of Drug Addiction: Linking Epigenetic to Synaptic and Circuit Mechanisms. *Neuron*, 102(1), 48-59. <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2019.01.016>
- Nie, X., Sun, Y., Wan, S., Zhao, H., Liu, R., Li, X., Wu, S., Nedelska, Z., Hort, J., Qing, Z., Xu, Y., & Zhang, B. (2017). Subregional Structural Alterations in Hippocampus and Nucleus Accumbens Correlate with the Clinical Impairment in Patients with Alzheimer's Disease Clinical Spectrum: Parallel Combining Volume and Vertex-Based Approach. *Front Neurol*, 8, 399. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00399>
- Nieoullon, A. (2002). Dopamine and the regulation of cognition and attention. *Prog Neurobiol*, 67(1), 53-83. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(02\)00011-4](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(02)00011-4)
- Nobili, A., Latagliata, E. C., Viscomi, M. T., Cavallucci, V., Cutuli, D., Giacobazzo, G., Krashia, P., Rizzo, F. R., Marino, R., Federici, M., De Bartolo, P., Aversa, D., Dell'Acqua, M. C., Cordella, A., Sancandi, M., Keller, F., Petrosini, L., Puglisi-Allegra, S., Mercuri, N. B.,...D'Amelio, M. (2017). Dopamine neuronal loss contributes to memory and reward dysfunction in a model of Alzheimer's disease. *Nat Commun*, 8, 14727. <https://doi.org/10.1038/ncomms14727>
- Ouyang, J., Carcea, I., Schiavo, J. K., Jones, K. T., Rabinowitsch, A., Kolaric, R., Cabeza de Vaca, S., Froemke, R. C., & Carr, K. D. (2017). Food restriction induces synaptic incorporation of calcium-permeable AMPA receptors in nucleus accumbens. *Eur J Neurosci*, 45(6), 826-836. <https://doi.org/10.1111/ejn.13528>
- Paoletti, P., Bellone, C., & Zhou, Q. (2013). NMDA receptor subunit diversity: impact on receptor properties, synaptic plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci*, 14(6), 383-400. <https://doi.org/10.1038/nrn3504>
- Perez, G. A., Lai, Z., Edwards Iii, G. A., Dundee, J. M., Leahy, S. N., Qi, C., Qi, Y., Park, Y. J., Lu, T. C., Uddin, M. D., Zhao, R., Zheng, H., Li, H., & Jankowsky, J. L. (2026). Neuronal subtype governs amyloid structure, cellular response, and cognitive outcome in genetically targeted APP mouse models. *Mol Neurodegener*, 21(1), 2. <https://doi.org/10.1186/s13024-025-00919-9>
- Peterson, B. M., Martinez, L. A., Meisel, R. L., & Mermelstein, P. G. (2016). Estradiol impacts the endocannabinoid system in female rats to influence behavioral and structural responses to cocaine. *Neuropharmacology*, 110(Pt A), 118-124. <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.06.002>
- Pilotto, A., Galli, A., Sala, A., Caminiti, S. P., Presotto, L., Liguori, C., Mercuri, N. B., Premi, E., Garibotto, V., Frisoni, G., Chiaravalloti, A., Schillaci, O., D'Amelio, M., Paghera, B., Lucchini,

- S., Bertagna, F., Perani, D., & Padovani, A. (2025). Dopaminergic deficits along the spectrum of Alzheimer's disease [Research Article]. *Molecular Psychiatry*. <https://doi.org/10.1038/s41380-025-02913-5>
- Pradeepkiran, J. A., Baig, J., Islam, M. A., Kshirsagar, S., & Reddy, P. H. (2024). Amyloid-beta and Phosphorylated Tau are the Key Biomarkers and Predictors of Alzheimer's Disease [Review]. *Aging Dis*, 16(2), 658-682. <https://doi.org/10.14336/AD.2024.0286>
- Preda, S., Govoni, S., Lanni, C., Racchi, M., Mura, E., Grilli, M., & Marchi, M. (2008). Acute beta-amyloid administration disrupts the cholinergic control of dopamine release in the nucleus accumbens. *Neuropsychopharmacology*, 33(5), 1062-1070. <https://doi.org/10.1038/sj.npp.1301485>
- Reddy, P. H., Yin, X., Manczak, M., Kumar, S., Pradeepkiran, J. A., Vijayan, M., & Reddy, A. P. (2018). Mutant APP and amyloid beta-induced defective autophagy, mitophagy, mitochondrial structural and functional changes and synaptic damage in hippocampal neurons from Alzheimer's disease. *Hum Mol Genet*, 27(14), 2502-2516. <https://doi.org/10.1093/hmg/ddy154>
- Richfield, E. K., Penney, J. B., & Young, A. B. (1989). Anatomical and affinity state comparisons between dopamine D1 and D2 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience*, 30(3), 767-777. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90168-1](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90168-1)
- Riffo-Lepe, N., Gonzalez-Sanmiguel, J., Armijo-Weingart, L., Saavedra-Sieyes, P., Hernandez, D., Ramos, G., San Martin, L. S., & Aguayo, L. G. (2025). Synaptic and synchronic impairments in subcortical brain regions associated with early non-cognitive dysfunction in Alzheimer's disease [Review]. *Neural Regen Res*, 21(1), 248-264. <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-24-01052>
- Riffo-Lepe, N., Gonzalez-Sanmiguel, J., Meza, I., Saavedra-Sieyes, P., Armijo-Weingart, L., Salinas, A., Martin, L. S., & Aguayo, L. G. (2026). Selective impairment of long-term depression in accumbal D1-MSNs involves calcium-permeable AMPARs in Alzheimer's disease. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.64898/2026.01.19.700385>
- Russo, S. J., & Nestler, E. J. (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat Rev Neurosci*, 14(9), 609-625. <https://doi.org/10.1038/nrn3381>
- Saavedra-Sieyes, P., Meza, I., Riffo-Lepe, N., San Martin, L., Gonzalez-SanMiguel, J., & Aguayo, L. G. (2025). Alterations in neuronal excitability and AMPA-mediated neurotransmission in an APP/PS1 neuronal culture model derived from nucleus accumbens [Research Article]. *J Alzheimers Dis*, 13872877251378468. <https://doi.org/10.1177/13872877251378468>
- Salgado, S., & Kaplitt, M. G. (2015). The Nucleus Accumbens: A Comprehensive Review. *Stereotact Funct Neurosurg*, 93(2), 75-93. <https://doi.org/10.1159/000368279>
- Scaduto, P., Lauterborn, J. C., Cox, C. D., Fracassi, A., Zeppillo, T., Gutierrez, B. A., Keene, C. D., Crane, P. K., Mukherjee, S., Russell, W. K., Tagliatela, G., & Limon, A. (2023). Functional excitatory to inhibitory synaptic imbalance and loss of cognitive performance in people with Alzheimer's disease neuropathologic change. *Acta Neuropathol*, 145(3), 303-324. <https://doi.org/10.1007/s00401-022-02526-0>
- Scharfman, H. E., & Myers, C. E. (2016). Corruption of the dentate gyrus by "dominant" granule cells: Implications for dentate gyrus function in health and disease. *Neurobiol Learn Mem*, 129, 69-82. <https://doi.org/10.1016/j.nlm.2015.09.005>
- Scheyer, A. F., Christian, D. T., Wolf, M. E., & Tseng, K. Y. (2018). Emergence of Endocytosis-Dependent mGlu1 LTD at Nucleus Accumbens Synapses After Withdrawal From Cocaine Self-Administration. *Front Synaptic Neurosci*, 10, 36. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2018.00036>
- Selkoe, D. J., & Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO Mol Med*, 8(6), 595-608. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>

- Sepulveda, F. J., Fierro, H., Fernandez, E., Castillo, C., Peoples, R. W., Opazo, C., & Aguayo, L. G. (2014). Nature of the neurotoxic membrane actions of amyloid-beta on hippocampal neurons in Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*, 35(3), 472-481. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.08.035>
- Sha, S., Chaigneau, T., & Krantic, S. (2023). Pre-symptomatic synaptic dysfunction and longitudinal decay of hippocampal synaptic function in APPPS1 mouse model of Alzheimer's disease is sex-independent. *Brain Res Bull*, 198, 36-49. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2023.04.005>
- Shah, J., Krell-Roesch, J., Forzani, E., Knopman, D. S., Jack, C. R., Petersen, R. C., Che, Y., Wu, T., & Geda, Y. E. (2025). Predicting cognitive decline from neuropsychiatric symptoms and Alzheimer's disease biomarkers: A machine learning approach to a population-based data [Research Article]. *J Alzheimers Dis*, 103(3), 833-843. <https://doi.org/10.1177/13872877241306654>
- Shankar, G. M., Li, S., Mehta, T. H., Garcia-Munoz, A., Shepardson, N. E., Smith, I., Brett, F. M., Farrell, M. A., Rowan, M. J., Lemere, C. A., Regan, C. M., Walsh, D. M., Sabatini, B. L., & Selkoe, D. J. (2008). Amyloid-beta protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med*, 14(8), 837-842. <https://doi.org/10.1038/nm1782>
- Shepherd, J. D., & Huganir, R. L. (2007). The cell biology of synaptic plasticity: AMPA receptor trafficking. *Annu Rev Cell Dev Biol*, 23, 613-643. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.23.090506.123516>
- Shuen, J. A., Chen, M., Gloss, B., & Calakos, N. (2008). Drd1a-tdTomato BAC transgenic mice for simultaneous visualization of medium spiny neurons in the direct and indirect pathways of the basal ganglia. *J Neurosci*, 28(11), 2681-2685. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.5492-07.2008>
- Targa Dias Anastacio, H., Matosin, N., & Ooi, L. (2022). Neuronal hyperexcitability in Alzheimer's disease: what are the drivers behind this aberrant phenotype? *Transl Psychiatry*, 12(1), 257. <https://doi.org/10.1038/s41398-022-02024-7>
- Targa Dias Anastacio, H., Matosin, N., & Ooi, L. (2024). Familial Alzheimer's Disease Neurons Bearing Mutations in PSEN1 Display Increased Calcium Responses to AMPA as an Early Calcium Dysregulation Phenotype [Research Article]. *Life (Basel)*, 14(5). <https://doi.org/10.3390/life14050625>
- Thomas, M. J., Beurrier, C., Bonci, A., & Malenka, R. C. (2001). Long-term depression in the nucleus accumbens: a neural correlate of behavioral sensitization to cocaine. *Nat Neurosci*, 4(12), 1217-1223. <https://doi.org/10.1038/nn757>
- Toledo, J. P., Fernandez-Perez, E. J., Ferreira, I. L., Marinho, D., Riffo-Lepe, N. O., Pineda-Cuevas, B. N., Pinochet-Pino, L. F., Burgos, C. F., Rego, A. C., & Aguayo, L. G. (2021). Boldine Attenuates Synaptic Failure and Mitochondrial Deregulation in Cellular Models of Alzheimer's Disease. *Front Neurosci*, 15, 617821. <https://doi.org/10.3389/fnins.2021.617821>
- Tropea, M. R., Li Puma, D. D., Melone, M., Gulisano, W., Arancio, O., Grassi, C., Conti, F., & Puzzo, D. (2021). Genetic deletion of alpha7 nicotinic acetylcholine receptors induces an age-dependent Alzheimer's disease-like pathology. *Prog Neurobiol*, 206, 102154. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2021.102154>
- Turner, B. D., Kashima, D. T., Manz, K. M., Grueter, C. A., & Grueter, B. A. (2018). Synaptic Plasticity in the Nucleus Accumbens: Lessons Learned from Experience. *ACS Chem Neurosci*, 9(9), 2114-2126. <https://doi.org/10.1021/acscchemneuro.7b00420>
- Turner, P. R., O'Connor, K., Tate, W. P., & Abraham, W. C. (2003). Roles of amyloid precursor protein and its fragments in regulating neural activity, plasticity and memory. *Prog Neurobiol*, 70(1), 1-32. [https://doi.org/10.1016/s0301-0082\(03\)00089-3](https://doi.org/10.1016/s0301-0082(03)00089-3)

- Valdivia, G., Ardiles, A. O., Idowu, A., Salazar, C., Lee, H. K., Gallagher, M., Palacios, A. G., & Kirkwood, A. (2023). mGluR-dependent plasticity in rodent models of Alzheimer's disease. *Front Synaptic Neurosci*, 15, 1123294. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2023.1123294>
- Verbal, F., Rubilar, N., Marileo, A. M., Fierro, H., Ramirez-Molina, O. G., Pinto-Leon, A., Yevenes, G. E., Fuentealba, J., & Panes-Fernandez, J. (2026). Current perspectives on circadian regulation of mitochondrial dynamics in mood disorders and perioperative stress. *Front Pharmacol*, 17, 1723748. <https://doi.org/10.3389/fphar.2026.1723748>
- Vieitas-Gaspar, N., Soares-Cunha, C., & Rodrigues, A. J. (2025). From valence encoding to motivated behavior: A focus on the nucleus accumbens circuitry [Review]. *Neurosci Biobehav Rev*, 172, 106125. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2025.106125>
- Vossel, K., Johnson, E. L., Cretin, B., & Matsumoto, R. (2026). Epileptic activity in Alzheimer's disease: emerging insights and therapeutic implications. *Lancet Neurol*. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(25\)00425-9](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(25)00425-9)
- Vossel, K. A., Tartaglia, M. C., Nygaard, H. B., Zeman, A. Z., & Miller, B. L. (2017). Epileptic activity in Alzheimer's disease: causes and clinical relevance. *Lancet Neurol*, 16(4), 311-322. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(17\)30044-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(17)30044-3)
- Whitcomb, D. J., Hogg, E. L., Regan, P., Piers, T., Narayan, P., Whitehead, G., Winters, B. L., Kim, D. H., Kim, E., St George-Hyslop, P., Klenerman, D., Collingridge, G. L., Jo, J., & Cho, K. (2015). Intracellular oligomeric amyloid-beta rapidly regulates GluA1 subunit of AMPA receptor in the hippocampus. *Sci Rep*, 5, 10934. <https://doi.org/10.1038/srep10934>
- Wolf, M. E. (2016). Synaptic mechanisms underlying persistent cocaine craving. *Nat Rev Neurosci*, 17(6), 351-365. <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.39>
- Wolf, M. E., & Tseng, K. Y. (2012). Calcium-permeable AMPA receptors in the VTA and nucleus accumbens after cocaine exposure: when, how, and why? *Front Mol Neurosci*, 5, 72. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2012.00072>
- Wong, B., Zimbelman, A. R., Milovanovic, M., Wolf, M. E., & Stefanik, M. T. (2022). GluA2-lacking AMPA receptors in the nucleus accumbens core and shell contribute to the incubation of oxycodone craving in male rats. *Addict Biol*, 27(6), e13237. <https://doi.org/10.1111/adb.13237>
- Wright, A. L., Zinn, R., Hohensinn, B., Konen, L. M., Beynon, S. B., Tan, R. P., Clark, I. A., Abdipranoto, A., & Vissel, B. (2013). Neuroinflammation and neuronal loss precede Abeta plaque deposition in the hAPP-J20 mouse model of Alzheimer's disease. *PLoS One*, 8(4), e59586. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059586>
- Wu, D., Zhang, B., Chang, Y., & Huang, S. (2024). Apathy Associated with Alzheimer's Disease [Review]. *Curr Alzheimer Res*, 21(8), 527-537. <https://doi.org/10.2174/0115672050350970241216072400>
- Yi, H. A., Moller, C., Dieleman, N., Bouwman, F. H., Barkhof, F., Scheltens, P., van der Flier, W. M., & Vrenken, H. (2016). Relation between subcortical grey matter atrophy and conversion from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease [Article]. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*, 87(4), 425-432. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-309105>
- Zapata-Restrepo, L. M., Miller, B. L., Rivas, J., Possin, K., Valcour, V., Pina-Escudero, S. D., Ibanez, A., & Kosik, K. S. (2025). Case of early onset Alzheimer's disease associated with a novel PSEN1 variant identified in Colombia. *NPJ Dement*, 1(1), 31. <https://doi.org/10.1038/s44400-025-00036-w>
- Zhang, Y., Liang, Y., & Gu, Y. (2025). The dopaminergic system and Alzheimer's disease [Review]. *Neural Regen Res*, 20(9), 2495-2512. <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-24-00230>
- Zheng, Q., & Wang, X. (2024). Alzheimer's disease: insights into pathology, molecular mechanisms, and therapy [Review]. *Protein Cell*. <https://doi.org/10.1093/procel/pwae026>

- Zhong, M. Z., Peng, T., Duarte, M. L., Wang, M., & Cai, D. (2024). Updates on mouse models of Alzheimer's disease [Review]. *Mol Neurodegener*, 19(1), 23. <https://doi.org/10.1186/s13024-024-00712-0>
- Zinchenko, V. P., Dolgacheva, L. P., & Tuleukhanov, S. T. (2024). Calcium-permeable AMPA and kainate receptors of GABAergic neurons [Review]. *Biophys Rev*, 16(2), 165-171. <https://doi.org/10.1007/s12551-024-01184-8>
- Zufferey, V., Gunten, A. V., & Kherif, F. (2020). Interactions between Personality, Depression, Anxiety and Cognition to Understand Early Stage of Alzheimer's Disease. *Curr Top Med Chem*, 20(9), 782-791. <https://doi.org/10.2174/1568026620666200211110545>

ANEXO

Artículo asociado a tesis doctoral enviado a revisión por pares. Disponible en el repositorio de pre-prints BioRxiv

Selective impairment of long-term depression in accumbal D1-MSNs involves calcium-permeable AMPARs in Alzheimer's disease

<https://www.biorxiv.org/content/10.64898/2026.01.19.700385v1>

doi: <https://doi.org/10.64898/2026.01.19.700385>

1 **Early dysfunction of synaptic long-term depression in D1 medium**
2 **spiny neurons in Alzheimer's disease**

3 Nicolas Riffo-Lepe¹, Juliana Gonzalez-Sanmiguel¹, Isaías Meza¹, Paulina Saavedra-
4 Sieyes¹, Lorena Armijo-Weingart^{1,3}, Armando Salinas⁵, Loreto San Martín^{1,2,4} & Luis G.
5 Aguayo^{1,2*}

6

7 1. Laboratorio de Neurofisiología, Departamento de Fisiología, Universidad de
8 Concepción, Concepción, Chile

9 2. Programa de Neurociencia, Psiquiatría y Salud Mental (NEPSAM), Universidad de
10 Concepción, Concepción, Chile

11 3. Facultad de Odontología, Universidad San Sebastián, Concepción, Chile.

12 4. Present address: Departamento de Bioquímica Clínica e Inmunología, Facultad de
13 Farmacia, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

14 5. Department of Pharmacology, Toxicology & Neuroscience, Louisiana State
15 University Health Shreveport, Shreveport, LA, USA

16

17 * Corresponding author

18

19 Luis G. Aguayo, Ph.D.

20 Professor

21 Department of Physiology

22 University of Concepcion

23 PO Box 160-C

24 Phone: 56 41 2203380 (2207318 lab)

25 Concepcion, Chile

26 laguayo@udec.cl

27 **Abstract**

28 **Background**

29 Alzheimer's disease (AD) has been predominantly investigated from the perspective of
30 advanced pathological stages to identify mechanisms underlying memory loss.
31 Consequently, research has focused on cortical and hippocampal circuits that exhibit
32 prominent late-stage neuropathology and drive cognitive decline. However, non-cognitive
33 symptoms frequently emerge during earlier phases of disease progression and are
34 associated with mesolimbic dysfunction. The nucleus accumbens (nAc), a central
35 integrative hub of this system, regulates motivational and hedonic processes and displays
36 early structural alterations in patients with AD. Despite this, the synaptic mechanisms
37 underlying nAc vulnerability during pre-plaque stages remain poorly defined.

38 **Methods**

39 We combined whole-cell electrophysiological recordings and pharmacological
40 manipulations to examine synaptic transmission and plasticity in the nAc of APP/PS1
41 mice at pre-plaque stages. Cell-type-specific analyses were performed using *Drd1a*-
42 *tdTomato* reporter mice to identify dopamine D1 receptor-expressing medium spiny
43 neurons (D1R+MSNs). Photometric measurements with GCaMP6s and dLight1.1
44 evaluated calcium and dopamine dynamics. Behavioral assays assessed hedonic
45 consumption in a conditioned place preference paradigm, as well as anxiety-like behavior
46 and social interaction.

47 **Results**

48 At 3 months of age, intraneuronal A β accumulation was detectable in the nucleus

49 accumbens of APP/PS1 mice but was not associated with synaptic alterations. By 6
50 months, intraneuronal A β levels increased comparably in D1R+MSNs and D1R-MSNs;
51 however, only D1R+MSNs exhibited a selective loss of long-term depression. This deficit
52 was associated with enhanced AMPA receptor-mediated excitatory drive, increased
53 inward rectification, and elevated sensitivity to NASPM, consistent with functional
54 accumulation of calcium-permeable AMPA receptors and reduced mGluR1/5-dependent
55 signaling in D1R+MSNs. Photometric measurements revealed an increased AMPA
56 receptor-dependent calcium component together with reduced dopamine release in the
57 nAc. Associative learning, anxiety, and social interaction remained intact, whereas
58 hedonic consumption was selectively increased in APP/PS1 mice.

59 **Conclusions**

60 Persistent incorporation of calcium-permeable AMPA receptors, together with impaired
61 neuromodulatory signaling in D1R+MSNs, is associated with early non-cognitive
62 behavioral alterations, identifying cell-type-specific synaptic remodeling in the nAc as a
63 mechanistic substrate of early Alzheimer's disease vulnerability.

64 **Keywords:** Alzheimer's disease; nucleus accumbens; D1 receptor-expressing medium
65 spiny neurons; synaptic plasticity; calcium-permeable AMPA receptors; long-term
66 depression

67

68

69

70

71 **Introduction**

72 Alzheimer's disease (AD) is the most prevalent form of dementia and arises from a
73 complex interplay between genetic susceptibility and environmental factors, ranging from
74 mutations in genes critical for neuronal function to social and lifestyle determinants
75 (Dubois et al., 2024; Migeot et al., 2025). Although memory impairment has long been
76 considered the primary clinical hallmark of AD (Selkoe & Hardy, 2016), accumulating
77 evidence indicates that neuropsychiatric symptoms, including mood disturbances,
78 dysregulated motivation, impulsivity, and compulsive behaviors, emerge before cognitive
79 decline and strongly predict subsequent dementia (Masters et al., 2015; Shah et al.,
80 2025). Importantly, these early manifestations often reflect altered reward processing
81 rather than motivational loss, preceding the apathetic phenotype that characterizes later
82 disease stages (de Jong et al., 2012; Yi et al., 2016). Despite their clinical relevance, the
83 cellular and circuit-level mechanisms underlying these early non-cognitive alterations
84 remain poorly understood, particularly within subcortical regions involved in emotional
85 and motivational regulation (Riffo-Lepe et al., 2025).

86 A defining feature of AD progression is the temporal dissociation between intracellular
87 and extracellular amyloid-beta ($A\beta$) pathology. While extracellular $A\beta$ plaques appear at
88 advanced disease stages in humans and animal models, intracellular (intraneuronal) $A\beta$
89 accumulation occurs months to years earlier and is now recognized as one of the earliest
90 pathological events, preceding amyloid plaque and neurofibrillary tangle deposition (Iulita
91 et al., 2014; LaFerla et al., 2007; Ochiishi et al., 2019; Pensalfini et al., 2014; Riffo-Lepe
92 et al., 2025; Wirths et al., 2001). Intraneuronal $A\beta$ disrupts calcium signaling, synaptic
93 homeostasis, and neuronal excitability (Alcantara-Gonzalez et al., 2025; Chang et al.,

94 2025; LaFerla et al., 2007), yet the consequences of this pathology outside canonical
95 hippocampal and cortical circuits remain largely unexplored. Recent work indicates that
96 the synaptic and circuit-level consequences of A β pathology critically depend on both its
97 subcellular localization and the neuronal populations affected (Perez et al., 2026). While
98 extracellular A β has been shown to induce synaptic depression and receptor loss
99 predominantly in cortical and hippocampal circuits at advanced disease stages
100 (Guntupalli et al., 2017; Wang et al., 2002), emerging evidence suggests that intracellular
101 A β may engage distinct mechanisms that are highly cell-type dependent (Perez et al.,
102 2026). However, whether intraneuronal A β accumulation selectively impacts subcortical
103 reward circuits and whether these effects differ from those attributed to extracellular
104 amyloid pathology, remains unknown.

105 Emerging evidence indicates that early pathological changes affect the mesolimbic
106 system (Cordella et al., 2018; Kelly et al., 2021; Wu et al., 2024). The nucleus accumbens
107 (nAc), a central integrative hub within this circuit, receives convergent glutamatergic
108 inputs from the prefrontal cortex, amygdala, hippocampal subiculum, and thalamus, as
109 well as dopaminergic projections from the ventral tegmental area (VTA) (Russo & Nestler,
110 2013). Through these connections, the nAc plays a critical role in encoding reward value,
111 motivational salience, and hedonic drive, particularly in the regulation of food-seeking
112 behavior and consumption of palatable rewards (Floresco, 2015; Italia et al., 2025; Russo
113 & Nestler, 2013). Notably, studies in patients and mouse models indicate that nAc
114 dysfunction precedes cognitive decline and is associated with early alterations in reward-
115 related behaviors, including changes in hedonic drive and impulse control (Armijo-
116 Weingart et al., 2024; Contreras et al., 2020; Cordella et al., 2018; Fernández-Pérez et

117 al., 2020; Nie et al., 2017). In this line, we have previously reported the intraneuronal
118 accumulation of A β accompanied by increased neuronal excitability in the nAc of 6-
119 month-old APP/PS1 mice, in the absence of extracellular amyloid plaque deposition
120 (Fernández-Pérez et al., 2020), raising the possibility that intraneuronal A β pathology
121 disrupts accumbal synaptic physiology during early stages of AD progression.

122 Medium spiny neurons (MSNs), the predominant neuronal population in the nAc, are
123 inhibitory GABAergic projection neurons that provide the main output of this structure and
124 coordinate information flow via dopamine receptor type 1 (D1R) – and dopamine receptor
125 type 2 (D2R)–expressing pathways (Russo & Nestler, 2013; Vieitas-Gaspar et al., 2025).
126 Balanced excitation and inhibition across these pathways is critical for appropriate
127 motivational salience and behavioral flexibility (Li et al., 2025; Scaduto et al., 2023). Long-
128 term depression (LTD) represents the predominant form of long term synaptic plasticity
129 in the nAc and serves as a key mechanism for constraining excitatory drive, thereby
130 preventing pathological strengthening of glutamatergic inputs (Kauer & Malenka, 2007;
131 Thomas et al., 2001). Accumbal LTD critically depends on AMPA receptor (AMPA)
132 remodeling driven by group I metabotropic glutamate receptor (mGluR1/5) signaling,
133 which promotes endocytosis of calcium-permeable AMPARs (CP-AMPARs) to maintain
134 synaptic homeostasis (Luscher & Huber, 2010; Mango & Ledonne, 2023). Disruption of
135 this mechanism favors CP-AMPA accumulation, enhances excitatory transmission, and
136 reinforces direct pathway output, as demonstrated in addiction and food-restriction
137 paradigms characterized by heightened reward seeking (Carr, 2020; Conrad et al., 2008;
138 McCutcheon et al., 2011; Ouyang et al., 2017; Scheyer et al., 2018; Turner et al., 2018;
139 Wolf & Tseng, 2012; Wong et al., 2022).

140 AMPARs are tetrameric ionotropic receptors composed of GluA1–4 subunits that mediate
141 fast excitatory transmission (Henley & Wilkinson, 2016). AMPARs lacking edited GluA2,
142 including receptors enriched in GluA1 subunits, are calcium-permeable, exhibit inward
143 rectification, and contribute to synaptic plasticity processes involving dynamic receptor
144 trafficking (Cull-Candy & Farrant, 2021; Henley & Wilkinson, 2016). Although increases
145 in CP-AMPA expression or synaptic incorporation have been implicated in pathological
146 conditions such as addiction, eating disorders, and stress (Italia et al., 2025; Whitehead
147 et al., 2013; Wolf & Tseng, 2012), their regulation in the nAc during early AD remains
148 unknown.

149 Within this framework, two key questions remain unresolved. First, are early alterations
150 in AMPAR-mediated synaptic plasticity present in the nAc during pre-plaque stages of
151 AD, in the context of intraneuronal A β accumulation? Second, do specific MSN subtypes
152 exhibit differential vulnerability to these alterations? While extracellular A β has been
153 extensively shown to induce synaptic depression and AMPAR loss at advanced disease
154 stages, leading to synaptic failure and network disconnection (Cline et al., 2018; Kuhse
155 et al., 2023; Wright et al., 2023; Yang et al., 2016), the synaptic consequences associated
156 with endogenous intraneuronal A β accumulation during early, pre-plaque stages remain
157 poorly defined. Although acute intraneuronal dialysis of A β oligomers can alter AMPAR
158 trafficking in hippocampal neurons (Whitcomb et al., 2015), it is unknown whether
159 naturally occurring intraneuronal A β accumulation is associated with cell-type-specific
160 synaptic remodeling in subcortical structures such as the nAc.

161 Recent evidence indicates that dopaminergic dysfunction is an early event in AD,
162 preceding cognitive impairment (Pilotto et al., 2025). Reduced dopamine levels,

163 degeneration of VTA dopaminergic neurons, and decreased dopamine transporter
164 expression in the nucleus accumbens have been reported in patients and AD mouse
165 models (Cordella et al., 2018; Krashia et al., 2019; Nobili et al., 2017; Storga et al., 1996).
166 Together, these findings point to an early disruption of mesolimbic neuromodulatory
167 signaling that converges with alterations in synaptic plasticity and reward-related
168 behaviors during initial stages of A β pathology.

169 However, whether intraneuronal A β accumulation is associated with cell-type-specific
170 synaptic dysfunction in accumbal medium spiny neurons during pre-plaque stages of AD
171 has not been established. In this study, we tested the hypothesis that early intraneuronal
172 A β accumulation is associated with disrupted postsynaptic homeostasis and impaired
173 long-term depression selectively in dopamine D1R+MSNs, leading to aberrant excitatory
174 balance within the nAc. By integrating cell-type-specific electrophysiology, synaptic
175 plasticity assays, photometric measurements of calcium and dopamine signaling, and
176 behavioral analyses, our work identifies a selective vulnerability of accumbal D1R+MSNs
177 during early stages of AD and provides mechanistic insight into the synaptic substrates
178 underlying early non-cognitive alterations.

179 **METHODS**

180 **Animals**

181 All experimental procedures were approved by the Institutional Animal Care and Use
182 Committee of the University of Concepción (#CEBB 1194-2022) and were conducted in
183 accordance with national and international guidelines for the care and use of laboratory
184 animals. Male C57BL/6J mice, double-transgenic APP^{swe}/PS1^{dE9} mice
185 (MMRRC:034832; B6.Cg-Tg(APP^{swe},PSEN1^{dE9})85Dbo/Mmjax), and Drd1a-tdTomato

186 reporter mice (B6.Cg-Tg(Drd1a-tdTomato)6Calak/J; JAX stock #016204) were obtained
187 from The Jackson Laboratory (Bar Harbor, ME, USA) and maintained at the Regional
188 Center for Advanced Studies in Life Sciences (CREAV), University of Concepción. The
189 transgenic line expresses the Swedish mutation (K594M/N595L) in amyloid precursor
190 protein (APP) and the human presenilin-1 variant lacking exon 9 (PS1-dE9), leading to
191 an increased A β production (Jankowsky et al., 2001). Drd1a-tdTomato mice express the
192 fluorescent reporter tdTomato under the control of the dopamine D1 receptor (Drd1a)
193 promoter, allowing selective visualization of D1R-expressing medium spiny neurons (Ade
194 et al., 2011). To generate experimental cohorts enabling recordings from genetically
195 fluorescent labeled D1R+ MSNs, D1RtdTomato mice were crossed with APP/PS1 mice
196 to obtain APP/PS1/D1RtdTomato offspring (Fig. 2A); WT/D1RtdTomato littermates were
197 used as controls for these experiments. Genotyping was performed according to the
198 provider's instructions for each line. Mice were housed in groups of 2–5 under a 12 h
199 light/dark cycle with ad libitum access to food and water. Animals were used between 3
200 and 12 months of age. Euthanasia was performed by decapitation following anesthesia
201 with inhaled isoflurane.

202 **Immunohistochemistry**

203 Mice were anesthetized with ketamine (100 mg/kg, i.p.) and xylazine (10 mg/kg, i.p.) and
204 transcardially perfused with pre-warmed saline (0.9% NaCl, 35 °C), followed by freshly
205 prepared ice-cold 4% paraformaldehyde (PFA). Brains were then dissected, post-fixed
206 for 24 h at 4 °C, and cryoprotected in 30% sucrose for 3–5 days at 4 °C. Samples were
207 embedded in NEG50, cooled at –20°C for 2-4 h, and stored at –80°C for at least 24 h
208 before sectioning with a cryostat. Free-floating coronal sections (30 μ m) were rinsed in

209 Tris-phosphate buffer, permeabilized in Trisphosphate containing 1% BSA and 0.2%
210 Triton X-100, and incubated for 24 h at 4°C with primary antibodies: MOA β -2 (1:200,
211 mouse, Novus Biologicals, USA), MAP2 (1:200, guinea pig, Synaptic Systems,
212 Germany), and Iba1 (1:1000, rabbit, Alomone Labs, Germany). Sections were then
213 incubated for 2 h with secondary antibodies (Alexa Fluor 488, Alexa Fluor 594, Alexa
214 Fluor 647). Stained samples were mounted with DAKO fluorescent medium on glass
215 slides and imaged using confocal microscopy at the Advanced Microscopy Center (CMA,
216 Biobío). For each animal, at least two coronal sections were analyzed, with three distinct
217 regions of interest (ROIs) per section. Each ROI was consistently acquired as a Z-stack
218 (~20 μ m) for subsequent processing and quantification using FIJI and Zen software.

219 **Thioflavin-S staining**

220 Thioflavin-S (Sigma, T1892), which binds β -sheet-rich structures present in amyloid
221 aggregates, was used to assess extracellular amyloid plaque deposition as previously
222 described (Fernández-Pérez et al., 2020). Coronal brain sections (35 μ m) containing the
223 nucleus accumbens and hippocampus were mounted on glass slides and processed at
224 room temperature (~22 °C). Sections were dehydrated through a graded ethanol series
225 (50%, 70%, 80%, 90%, 95%, and 100%; 5 min each), incubated in xylene (Winkler, XI-
226 1670) for 10 min, and subsequently rehydrated through descending ethanol
227 concentrations (100%, 95%, 90%, 80%, and 70%; 5 min each). Freshly prepared
228 Thioflavin-S solution (0.05% in 50% ethanol) was filtered prior to use, and sections were
229 incubated for 10 min protected from light. Sections were then washed in 70% ethanol (3
230 min) followed by distilled water (2 min), coverslipped, and stored protected from light until
231 imaging. Images were acquired using confocal microscopy with identical acquisition

232 parameters across genotypes and brain regions. For each animal, five sections were
233 analyzed, sampled every 100 μm , and four animals per group were included.
234 Autofluorescence background was estimated from negative control sections processed
235 without Thioflavin-S and subtracted from all images. Fluorescent puncta larger than 5 μm
236 were considered amyloid plaques. Absence of detectable Thioflavin-S signal was
237 interpreted as absence of plaque deposition. The analysis was performed blinded to
238 genotype.

239 **Electrophysiological recordings in coronal brain slices**

240 Acute coronal brain slices containing the nucleus accumbens were prepared from male
241 mice anesthetized with isoflurane and euthanized by decapitation. Brains were rapidly
242 removed and transferred to an ice-cold, oxygenated cutting solution containing (in mM):
243 194 sucrose, 30 NaCl, 4.5 KCl, 1.2 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, 1 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 26 NaHCO_3 , and 10
244 glucose (pH 7.4, equilibrated with 95% O_2 /5% CO_2). Coronal slices (300 μm) were
245 prepared using a vibratome (VT1200, Leica, Germany) and allowed to recover for 1 h at
246 32°C in artificial cerebrospinal fluid (aCSF) containing (in mM): 124 NaCl, 26 NaHCO_3 ,
247 10 glucose, 4.5 KCl, 2 $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 1 $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, and 1.2 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, continuously
248 bubbled with 95% O_2 /5% CO_2 .

249 Whole-cell patch-clamp recordings were performed in the nAc core using an Axopatch
250 200B amplifier coupled to a Digidata 1440A digitizer and pClamp 10 software (Axon
251 Instruments). Recording pipettes (4–5 $\text{M}\Omega$) were pulled from borosilicate glass capillaries
252 (WPI) using a horizontal puller (P-1000, Sutter Instruments). During recordings, slices
253 were continuously perfused with oxygenated aCSF at 32°C. Signals were low-pass
254 filtered at 2 kHz and digitized at 10 kHz. Series resistance was continuously monitored

255 and partially compensated (60–70%) throughout the recordings; cells were excluded if
256 series resistance changed by more than 20%. To avoid pseudo-replication, only a single
257 neuron was recorded from each brain slice.

258 **Voltage Clamp recordings**

259 For voltage-clamp experiments, the internal pipette solution contained (in mM): 120 CsCl,
260 10 HEPES, 4 MgCl₂·6H₂O, 2 Mg-ATP, 0.5 Na₂-GTP, and 10 BAPTA (tetra-Cs) (pH 7.4,
261 adjusted with CsOH; 290 mOsm), together with QX-314 (1 mM) and TEA-Cl (5 mM). For
262 rectification index experiments, Spermine (100 μM) was also included. For DHPG-
263 induced LTD experiments, EGTA (1 mM) was used instead of BAPTA. Bath solutions
264 were continuously perfused at a rate of 1 mL/min.

265 **Spontaneous synaptic currents.**

266 Spontaneous excitatory postsynaptic currents (sEPSCs) were recorded at a holding
267 potential of –60 mV. AMPAR-mediated events were isolated by bath application of
268 picrotoxin (PTX, 100 μM) to block GABA_A and glycine receptors, and D-AP5 (50 μM) to
269 block NMDA receptors. After break-in, cells were allowed to stabilize for at least 10 min
270 before recording. sEPSCs were recorded under baseline conditions and subsequently in
271 the presence of PTX and D-AP5 for a minimum of 15 min. Event detection was performed
272 using the template search algorithm in Clampfit v11, and at least 300 events per cell were
273 analyzed. Parameters quantified included event frequency, amplitude, rise time, and
274 decay time.

275 **Synaptic stimulation and evoked responses.**

276 Evoked excitatory postsynaptic currents (eEPSCs) were elicited using a tungsten bipolar
277 stimulating electrode (World Precision Instruments) positioned approximately 100 μm

278 from the recorded neuron and connected to an isolated pulse stimulator (A-M Systems).
279 Square current pulses (1 ms, 0.05–0.5 mA) were delivered to evoke stable responses
280 with amplitudes ≤ 200 pA. Stimulation intensity was adjusted only at the beginning of each
281 recording to obtain a stable response and was not modified thereafter. Baseline
282 recordings were initiated only after achieving stable eEPSCs that varied by no more than
283 30% over a period exceeding 1 min (corresponding to at least three consecutive sweeps,
284 delivered every 20 s).

285 **AMPA/NMDA ratio.**

286 AMPAR- and NMDAR-mediated components were measured from eEPSCs recorded in
287 the presence of PTX (100 μ M). AMPAR responses were obtained at -60 mV. The holding
288 potential was then shifted to $+40$ mV to record mixed AMPA+NMDA responses (30
289 sweeps, one every 20 s). D-AP5 (50 μ M) was subsequently applied to isolate the AMPAR
290 component at $+40$ mV. The NMDA component was calculated by subtracting the
291 averaged AMPAR trace from the mixed response, and its amplitude was measured 20
292 ms after the peak of the AMPAR current. The AMPA/NMDA ratio was calculated as the
293 peak AMPAR current divided by the NMDA current amplitude.

294 **Paired-pulse ratio (PPR).**

295 Paired-pulse ratio (PPR) was assessed at -60 mV using two consecutive stimuli delivered
296 with a 70 ms inter-stimulus interval. PPR was calculated as the ratio between the second
297 and first eEPSC amplitudes ($R2/R1$), using responses ≤ 200 pA.

298 **Rectification index (RI).**

299 Rectification properties of AMPAR-mediated currents were assessed using CsCl-based
300 internal solution containing spermine (100 μ M), in the presence of PTX (100 μ M) and D-

301 AP5 (50 μ M). eEPSCs were recorded at holding potentials ranging from -60 to $+40$ mV
302 in 20 mV increments. For each potential, 30 sweeps were collected and averaged. The
303 rectification index was calculated as the ratio of the absolute current amplitude at $+40$ mV
304 to that at -60 mV.

305 **NASPM sensitivity.**

306 To assess the contribution of calcium-permeable AMPARs, MSNs were voltage-clamped
307 at -60 mV. After establishing a stable baseline for at least 10 min (one stimulus every 20
308 s), NASPM (150 μ M) was bath-applied for a minimum of 15 min. Inhibition was expressed
309 as the percentage reduction in mean eEPSC amplitude, comparing baseline responses
310 with those recorded during the last 5 min of NASPM application.

311 **Long-term depression**

312 All LTD experiments were performed in the presence of PTX (100 μ M) and D-AP5 (50
313 μ M). For HFS-induced LTD, recordings were obtained with CsCl-based internal solution.
314 After recording a stable baseline for at least 10 min, LTD was induced using four trains of
315 stimuli delivered at 100 Hz (1 ms pulses), separated by 20 s. eEPSCs were recorded for
316 at least 40 min following induction. LTD magnitude was calculated as the percentage
317 change in normalized eEPSC amplitude during the last 5 min relative to baseline.

318 For mGluR1/5-dependent LTD, recordings were performed using internal solution
319 containing EGTA (1 mM). After a stable 10 min baseline, (RS)-3,5-
320 dihydroxyphenylglycine (DHPG, 50 μ M) was bath-applied for 5 min, and eEPSCs were
321 monitored for at least 25 min thereafter. LTD magnitude was calculated as the percentage
322 reduction in mean eEPSC amplitude during the final 5 min relative to baseline.

323 **Experimental design and analysis**

324 The number of cells and animals analyzed for each experiment is reported in the
325 corresponding figure legends. Animals were randomly selected for recordings without
326 prior knowledge of their APP/PS1 or WT genotype; only tdTomato fluorescence was used
327 to identify D1R-expressing neurons when applicable. Data acquisition and analysis were
328 performed blind to genotype.

329 **Stereotaxic injections**

330 Five-month-old male WT and APP/PS1 mice were used. Stereotaxic surgery was
331 performed to deliver adeno-associated viruses (AAVs) expressing the genetically
332 encoded calcium indicator GCaMP6s under the synapsin promoter, as previously
333 described (Armijo-Weingart et al., 2024). A total of 200 nL of AAV1-Syn-
334 GCaMP6s.WPRE.SV40 (1.76×10^{13} GC/ml; Addgene #100843-AAV1) or or 400 nL of
335 pAAV-CAG-dLight1.1 (7×10^{12} vg/ml; Addgene #111067-AAV5) was injected bilaterally
336 into the nucleus accumbens (nAc) using a stereotaxic alignment system (Kopf
337 Instruments). Injection coordinates relative to bregma were: AP +0.13 mm, ML \pm 0.11 mm,
338 and DV -0.4 mm (Allen Brain Atlas). Mice were anesthetized with 4% isoflurane/oxygen
339 and positioned in a stereotaxic frame; anesthesia was maintained with 2–3%
340 isoflurane/oxygen throughout the procedure. After leveling the skull, a small craniotomy
341 was made at the target site. A 1 μ L Neuros Hamilton syringe was lowered slowly to the
342 desired depth, and viral solution was delivered. The syringe was left in place for 1 min
343 post-infusion before withdrawal, and incisions were closed with Leukosan adhesive.

344 **Calcium and Dopamine photometry**

345 Two to three weeks after AAV injection, mice are 6 months old and completely recovered.
346 Acute coronal slices (300 μ m) containing the nAc were prepared for calcium or dopamine

347 imaging. Slices were transferred to an upright microscope and continuously perfused with
348 oxygenated aCSF (1 mL/min). The recording region of interest (medial to the anterior
349 commissure, corresponding to the nAc core) was visualized under fluorescence to
350 confirm GCaMP6s or Dlight1.1 expression. A bipolar stimulating electrode (DS3 Isolated
351 Current Stimulator, Digitimer, UK) was placed on the slice surface near the area of
352 interest. Stimulation consisted of single electrical pulses (400–800 μ A, 1 ms duration, 10
353 Hz). Transients were measured by slice photometry using a Horiba PTI D-104 Microscope
354 Photometer with a 710 nm photomultiplier tube mounted on an Olympus BX51
355 microscope, equipped with a 120 LED Boost High-Power illumination system and
356 appropriate fluorescence filters. Fluorescence signals were acquired using Patch-Master
357 software and expressed as $\Delta F/F_0$. Single-pulse electrical stimulation was delivered every
358 2 min, generating one evoked fluorescence transient per stimulus. A stable baseline was
359 recorded for 12 min (six responses), followed by bath application of the AMPAR
360 antagonist CNQX and continued stimulation for an additional 12 min until responses
361 reached a plateau. For analysis, $\Delta F/F_0$ values were normalized to baseline and expressed
362 as percentage change. Drug effects were quantified by comparing the mean response
363 during the last 6 min in the presence of CNQX with baseline for each slice. Data represent
364 individual slices obtained from at least three animals per experimental group, and
365 analyses were performed blind to genotype.

366 **Western blot**

367 The nucleus accumbens (nAc) was microdissected from coronal brain slices obtained
368 from 6-month-old WT and APP/PS1 male mice. Each biological replicate corresponded
369 to the entire nAc isolated from a single animal. Tissue samples were homogenized in ice-

370 cold RIPA buffer supplemented with protease and phosphatase inhibitor cocktails.
371 Lysates were centrifuged at 14,000 × g for 15 min at 4 °C, and supernatants were
372 collected for protein quantification. Equal amounts of protein (50 µg per lane) were
373 denatured in buffer, separated by SDS–PAGE, and transferred onto PVDF membranes.
374 Membranes were blocked in 5% non-fat dry milk prepared in TBS-T (Tris-buffered saline
375 containing 0.1% Tween-20) for 1 h at room temperature and then incubated overnight at
376 4 °C with primary antibodies against SV2 (DSHB #AB_2315387), PSD95 (Synaptic
377 Systems #124011), GluA1 (Synaptic Systems # #182011), GluA2 (Synaptic Systems
378 #182103, and Gβ (Santa Cruz, sc-166123) (used as loading control).

379 **qRT-PCR**

380 The nAc was microdissected from 300 µm coronal brain slices. Total RNA was extracted
381 using TRIzol reagent according to the manufacturer's instructions and treated with DNase
382 to eliminate potential genomic DNA contamination. Complementary DNA (cDNA) was
383 synthesized from 2 µg of total RNA using reverse transcriptase and oligo(dT) primers.
384 Quantitative real-time PCR was performed for 40 cycles using SYBR Green Universal
385 Master Mix (Agilent Technologies) and gene-specific primers targeting NMDA receptor
386 subunits and AMPA receptor subunits. The following primer pairs were used: Gria1
387 (GluA1), forward 5'-ACCCTCCATGTGATCGAAATG-3' and reverse 5'-
388 GGTTCTATTCTGGACGCTTGAG-3'; Gria2 (GluA2), forward 5'-
389 AAAGAATACCCTGGAGCACAC-3' and reverse 5'-CCAAACAATCTCCTGCATTTCC-3';
390 Grin1 (NMDA receptor subunit 1), forward 5'-AAATGTGTCCCTGTCCATACTC-3' and
391 reverse 5'-CCTGCCATGTTCTCAAAGTG-3'; Grin2b (NMDA receptor subunit 2B),
392 forward 5'-GAACGAGACTGACCCAAAGAG-3' and reverse 5'-

393 CAGAAGCTTGCTGTTCAATGG-3'. Cyclophilin A was used as the housekeeping gene,
394 with forward primer 5'-ATAATGGCACTGGTGGCAAGTC-3' and reverse primer 5'-
395 ATTCCTGGACCCAAAACGCTCC-3'. Relative mRNA expression levels were calculated
396 using the $\Delta\Delta C_t$ method and expressed as fold changes relative to WT controls.

397 **Statistical analysis**

398 All electrophysiological data were analyzed using Clampfit v11 (Molecular Devices).
399 Synaptic event detection was performed using the template search protocol implemented
400 in Clampfit. Data were organized in Microsoft Excel and subsequently imported into
401 GraphPad Prism (version 10) for statistical analyses and figure preparation. Normality
402 was assessed using the Shapiro–Wilk test. For comparisons between two independent
403 groups, unpaired two-tailed Student's t-tests or Welch's t-tests were used when variance
404 was unequal, whereas Mann–Whitney U tests were applied for non-normally distributed
405 data. For experiments involving repeated measures over time, such as LTD time-course
406 analyses, mixed-effects models with restricted maximum likelihood (REML) estimation
407 were used, with Genotype, Cell type, or Age as fixed factors and individual neurons
408 treated as random effects. When appropriate, post hoc comparisons were performed
409 using Sidak's or Tukey's multiple-comparison tests. Paired-pulse ratio analyses were
410 assessed using unpaired two-tailed t-tests. Data are presented as mean \pm s.e.m., and
411 statistical significance was defined as $p < 0.05$. Exact p values, test statistics, degrees of
412 freedom, and sample sizes are reported in the corresponding figure legends.

413 **RESULTS**

414 **Intracellular A β accumulates broadly in accumbal MSNs during early stages of**
415 **APP/PS1 pathology.**

416 To determine the onset of amyloid pathology in the nAc during early disease stages, we
417 performed immunohistochemical analyses in coronal brain sections from wild-type (WT)
418 and APP/PS1 mice at 3 months of age using the MoA β 2 antibody, which selectively
419 recognizes the N-terminal region of A β without cross-reacting with full-length APP. At this
420 age, intracellular A β immunoreactivity was detected within neuronal somata in the nAc of
421 APP/PS1 mice, whereas no extracellular plaque-like structures were observed.
422 Quantitative analysis revealed a significant increase in intracellular A β signal intensity in
423 APP/PS1 mice compared with WT controls (Fig. 1A, B), indicating that accumbal neurons
424 accumulate intraneuronal A β during early pre-plaque stages of APP/PS1 pathology.

425 To determine whether intraneuronal A β accumulation is differentially distributed across
426 MSN subtypes at later pre-plaque stages, we next analyzed 6-month-old
427 WT/D1RtdTomato and APP/PS1/D1RtdTomato mice. Consistent with our previous
428 observations in 6-month-old APP/PS1 mice (Fernández-Pérez et al., 2020),
429 APP/PS1/D1RtdTomato animals exhibited prominent intraneuronal A β signal confined to
430 neuronal somata within the nucleus accumbens, with no evidence of extracellular plaque
431 deposition (Fig. 1C). Quantitative analysis revealed a significant increase in A β intensity
432 in both D1R⁺ and D1R⁻ MSNs compared with WT controls (Fig. 1D), indicating that
433 intraneuronal A β accumulation during pre-plaque stages is broadly distributed across
434 MSN subtypes rather than restricted to a specific neuronal population.

435 To place these findings within the temporal progression of amyloid pathology, we
436 assessed extracellular plaque deposition using Thioflavin-S staining in coronal brain
437 sections from WT and APP/PS1 mice at 6 and 12 months of age (Fig. S1A). No plaques
438 were detected in the nAc at 6 months, whereas sparse plaque deposition was observed

439 at 12 months. In contrast, amyloid plaques were readily detectable in the cortex of
440 APP/PS1 mice at both ages examined (Fig. S1B). These data indicate that amyloid
441 pathology in the nAc remains predominantly intraneuronal during early disease stages,
442 preceding overt extracellular aggregation.

443 Finally, to evaluate whether early intraneuronal A β accumulation is associated with local
444 inflammatory responses, we quantified Iba1 (ionized calcium-binding adapter molecule 1)
445 immunoreactive microglia in the nAc of 6-month-old WT and APP/PS1 mice. No
446 significant differences were observed in microglial cell number or fluorescence intensity
447 between genotypes (Fig. S1C, D), indicating the absence of overt microglial activation at
448 this stage. Together, these results define an early histopathological window in the nAc
449 characterized by widespread intraneuronal A β accumulation across MSN subtypes, in the
450 absence of extracellular plaque deposition or detectable neuroinflammation.

451 **Selective impairment of long-term depression in the nAc of APP/PS1 mice emerges**
452 **at 6 months of age.**

453 To determine whether intraneuronal A β accumulation is associated with alterations in
454 accumbal synaptic plasticity, whole-cell electrophysiological recordings were performed
455 in acute nAc slices from 3- and 6-month-old WT and APP/PS1 mice. LTD was induced
456 using a high-frequency stimulation (HFS) protocol in the presence of the NMDA receptor
457 (NMDAR) antagonist APV and the GABA_A receptor (GABA_AR) blocker picrotoxin (PTX),
458 thereby isolating AMPAR-mediated evoked excitatory postsynaptic currents (eEPSCs).
459 At 3 months of age, HFS-induced LTD was robust and comparable between WT and
460 APP/PS1 mice. In contrast, at 6 months, LTD magnitude was markedly reduced in

461 APP/PS1 mice compared with WT controls, indicating a progressive disruption of
462 accumbal synaptic plasticity during early stages of pathology (Fig. S2A–G).

463 To determine whether the impairment of HFS-induced LTD was associated with altered
464 group I mGluR signaling, we next evaluated mGluR1/5-dependent LTD using bath
465 application of the agonist DHPG. In nAc slices from 6-month-old APP/PS1 mice, DHPG-
466 induced LTD was markedly attenuated compared with WT controls, indicating a
467 significant disruption of mGluR-dependent synaptic depression at this stage. This deficit
468 was observed under conditions in which NMDARs and GABA_ARs were pharmacologically
469 blocked, indicating that the impairment is independent of NMDA receptor– or inhibitory
470 synaptic transmission and points to a postsynaptic mechanism affecting AMPAR-
471 dependent plasticity (Fig. S2H–K).

472 To evaluate whether presynaptic release probability was altered at this stage, paired-
473 pulse ratio (PPR) was measured in nAc MSNs from 6-month-old WT and APP/PS1 mice.
474 PPR did not differ between genotypes (Fig. S2L–N), indicating that basal presynaptic
475 release probability is preserved during early stages of APP/PS1 pathology.

476 To assess cell-type specificity, we recorded electrically evoked EPSCs before and after
477 LTD induction in D1R⁺ and D1R[–] MSNs from 6-month-old WT/D1RtdTomato and
478 APP/PS1/D1RtdTomato mice, in which tdTomato selectively labels D1R-expressing
479 neurons (Fig. 2A). HFS-LTD was significantly reduced in APP/PS1 D1R⁺ MSNs
480 compared with WT D1R⁺ MSNs (Fig. 2B,C; one-way ANOVA, $F(3,19) = 6.170$, $p = 0.004$;
481 Tukey's post hoc test, $p = 0.015$), whereas D1R[–] MSNs exhibited preserved LTD across
482 genotypes and differed significantly from APP/PS1 D1R⁺ MSNs ($p = 0.005$; Fig. 2D).
483 Paired-pulse ratio did not differ between groups (Fig. 2E), indicating intact presynaptic

484 release probability across MSN subtypes. Together, these results demonstrate a
485 selective, cell-type-specific impairment of LTD in accumbal D1R+ MSNs during early
486 stages of APP/PS1 pathology.

487 **Postsynaptic upregulation of AMPAR signaling selectively affects accumbal D1R+**
488 **MSNs in APP/PS1 mice.**

489 To determine whether the impairment in LTD observed in APP/PS1 mice is associated
490 with alterations in glutamatergic synaptic transmission, we first quantified the
491 AMPA/NMDA ratio in MSNs of the nAc. Whole-cell voltage-clamp recordings were
492 performed at a holding potential of +40 mV to relieve the Mg²⁺ block of NMDARs, allowing
493 simultaneous measurement of AMPAR- and NMDAR-mediated components, followed by
494 pharmacological isolation and digital subtraction of NMDA currents (Fig. 3A–B). APP/PS1
495 MSNs exhibited a significant reduction in the AMPA/NMDA ratio compared with WT
496 controls (Fig. 3C).

497 Because AMPAR-mediated currents recorded at depolarized potentials are strongly
498 influenced by receptor subunit composition, including inward rectification and polyamine
499 block characteristic of Ca²⁺-permeable AMPARs (Cull-Candy & Farrant, 2021), this
500 reduction could reflect changes in postsynaptic AMPAR properties rather than a uniform
501 decrease in excitatory synaptic transmission. Such changes are consistent with a
502 reorganization of AMPAR populations and/or altered receptor surface expression.

503 To assess whether structural synaptic alterations accompany these functional changes,
504 we quantified key pre- and postsynaptic proteins in total nAc lysates from 6-month-old
505 WT and APP/PS1 mice (Fig. 3D–E). While the presynaptic vesicle protein SV2 was

506 unchanged between genotypes, the postsynaptic scaffold PSD-95 and the AMPAR
507 subunits GluA1 and GluA2 were significantly increased in APP/PS1 mice. These data
508 indicate a selective postsynaptic remodeling without evidence of presynaptic protein loss.
509 The upregulation of AMPAR subunits is consistent with the LTD deficit described above,
510 as enhanced AMPAR abundance is typically associated with synaptic strengthening
511 rather than depression (Italia et al., 2025; Muñoz de Leon-Lopez et al., 2025). Given that
512 CP-AMPARs are enriched in GluA1-containing assemblies lacking GluA2, these findings
513 are compatible with altered AMPAR subunit composition and support the hypothesis of
514 aberrant receptor remodeling in the nAc during early AD stages.

515 To determine whether these protein changes were transcriptionally regulated, we
516 performed qPCR analysis of AMPAR and NMDAR subunit transcripts in the nAc of WT
517 and APP/PS1 mice at 6 and 9 months of age (Fig. S3A–D). No significant differences
518 were detected in any of the transcripts analyzed at either age. These results suggest that
519 the increase in AMPAR protein levels is unlikely to arise from transcriptional upregulation
520 and instead may reflect post-transcriptional mechanisms such as altered translation,
521 trafficking, or protein stability.

522 We next examined excitatory synaptic transmission at 3 and 6 months of age. AMPAR-
523 mediated spontaneous EPSCs, recorded at -60 mV in the presence of PTX and APV and
524 blocked by CNQX, were similar between WT and APP/PS1 mice at 3 months (Fig. S4A–
525 I). In contrast, at 6 months, APP/PS1 MSNs exhibited increased sEPSC amplitude without
526 changes in event frequency or kinetics (Fig. S4J–R), accompanied by a rightward shift in
527 cumulative amplitude distributions (Fig. S4L–M). These findings indicate that functional

528 alterations in excitatory synaptic transmission emerge at 6 months of age, coinciding with
529 the onset of LTD deficits.

530 To determine whether these changes are cell-type specific, we performed whole-cell
531 recordings in WT/D1RtdTomato and APP/PS1/D1RtdTomato mice (Fig. 4). Two-way
532 ANOVA revealed a significant genotype \times MSN-type interaction for sEPSC amplitude
533 ($F(3,18) = 5.856, p = 0.0057$). Sidak's post hoc analysis showed a significant increase in
534 sEPSC amplitude selectively in APP/PS1 D1R+ MSNs compared with WT D1R+ MSNs,
535 whereas D1R- MSNs showed no genotype-dependent differences (Fig. 4C–D, G).
536 Importantly, sEPSC frequency remained unchanged across genotypes and MSN
537 subtypes (Fig. 4F), supporting a predominantly postsynaptic locus for these alterations.

538 Taken together, these results indicate a progressive, cell-type-specific enhancement of
539 AMPAR-mediated synaptic transmission in the nAc of APP/PS1 mice that selectively
540 affects D1R+ MSNs. This strengthening of excitatory input aligns temporally with the
541 selective loss of LTD observed at 6 months of age and provides a functional framework
542 for subsequent analyses of AMPAR subunit composition.

543 **Functional upregulation of calcium-permeable AMPA receptors in the nAc of**
544 **APP/PS1 mice.**

545 Considering the postsynaptic alterations observed in APP/PS1 mice, we next examined
546 whether these changes are associated with an early shift in AMPAR subunit composition
547 toward calcium-permeable AMPARs (CP-AMPARs). CP-AMPARs are characterized by
548 the absence of edited GluA2 subunits or enrichment in GluA1-containing assemblies,

549 allowing Ca^{2+} influx, inward rectification, and sensitivity to selective antagonists such as
550 NASPM (McCutcheon et al., 2011).

551 To assess AMPAR-dependent Ca^{2+} signaling in the nAc, GCaMP6s was expressed in the
552 nAc of 6-month-old WT and APP/PS1 mice, and electrically evoked Ca^{2+} transients were
553 recorded in acute accumbal brain slices (Fig. 5A–D). Bath application of CNQX (5 μM)
554 was used to isolate the AMPAR-dependent component of the Ca^{2+} response by
555 quantifying the reduction in fluorescence following AMPAR blockade. Accumbal slices
556 from APP/PS1 mice exhibited significantly larger CNQX-sensitive reductions in Ca^{2+}
557 transients compared with WT slices (Fig. 5C–D), indicating that a greater fraction of
558 evoked Ca^{2+} activity depends on AMPAR activation in the nAc of APP/PS1 mice. Given
559 that GluA2-lacking AMPARs permit Ca^{2+} entry and amplify downstream Ca^{2+} signaling,
560 these data are consistent with enhanced AMPAR-mediated Ca^{2+} contributions at early
561 disease stages.

562 We next examined the rectification properties of AMPAR-mediated currents by
563 quantifying the rectification index (RI) of eEPSCs recorded at holding potentials ranging
564 from -60 mV to $+40$ mV (Fig. 5E–H). APP/PS1 MSNs displayed reduced current
565 amplitudes at depolarized potentials compared with WT MSNs, resulting in a significantly
566 lower RI (Fig. 5H). This inwardly rectifying behavior reflects voltage-dependent polyamine
567 block of GluA2-lacking AMPARs and is a hallmark of CP-AMPA-mediated synaptic
568 currents (Cull-Candy & Farrant, 2021).

569 To directly evaluate the functional contribution of CP-AMPA to synaptic transmission,
570 the selective CP-AMPA antagonist NASPM (150 μM) was applied while recording

571 AMPAR-mediated eEPSCs in nAc MSNs (Fig. 5I–K). NASPM induced a significantly
572 greater inhibition of eEPSC amplitude in APP/PS1 MSNs compared with WT MSNs (Fig.
573 5K), indicating an increased contribution of NASPM-sensitive, calcium-permeable
574 AMPARs to excitatory synaptic transmission in APP/PS1 mice.

575 Together, these converging photometric, electrophysiological, and pharmacological
576 findings demonstrate an early functional upregulation of CP-AMPARs in the nAc of
577 APP/PS1 mice. This alteration in AMPAR composition provides a mechanistic substrate
578 for the enhanced excitatory transmission and loss of LTD observed in D1R+ MSNs at 6
579 months of age, implicating persistent CP-AMPAR incorporation as a key feature of
580 accumbal synaptic dysfunction during early stages of Alzheimer's disease.

581 **mGluR-dependent LTD is impaired in D1R+ MSNs displaying persistent CP-AMPAR**
582 **signaling in APP/PS1 mice**

583 Given that APP/PS1 mice exhibit both impaired LTD and enhanced CP-AMPAR signaling
584 in the nAc, we next examined whether persistent synaptic incorporation of GluA2-lacking
585 AMPARs is associated with altered expression of mGluR1/5-dependent LTD, a
586 homeostatic plasticity mechanism that normally promotes CP-AMPAR endocytosis
587 (Mango & Ledonne, 2023). To address this, whole-cell recordings were performed in
588 D1R+ and D1R– MSNs from 6-month-old WT/D1RtdT and APP/PS1/D1RtdT mice using
589 a sequential protocol consisting of baseline acquisition, induction of mGluR-LTD with
590 DHPG, and subsequent application of NASPM to block CP-AMPARs (Fig. 6A,B).

591 In WT D1R+ MSNs, DHPG induced a robust and sustained depression of eEPSC
592 amplitude, consistent with intact mGluR1/5-dependent LTD (Fig. 6C,D). Under these

593 conditions, subsequent NASPM application did not produce additional suppression of
594 synaptic currents, indicating that CP-AMPA contribution was minimal following LTD
595 expression. In contrast, in APP/PS1 D1R+ MSNs, DHPG failed to induce significant
596 synaptic depression, indicating an impairment of mGluR1/5-dependent LTD (Fig. 6C).
597 Notably, subsequent NASPM application produced a marked reduction in eEPSC
598 amplitude, restoring synaptic depression to levels comparable to those observed in WT
599 neurons following LTD induction (Fig. 6C,D). Paired-pulse ratio measurements before
600 and after LTD induction were unchanged across conditions (Fig. 6E), indicating preserved
601 presynaptic release probability.

602 Together, these findings indicate that mGluR1/5-dependent LTD is selectively impaired
603 in D1R+ MSNs of APP/PS1 mice, coinciding with persistent CP-AMPA-mediated
604 synaptic signaling. Acute CP-AMPA blockade unmasks synaptic depression under
605 these conditions, consistent with altered AMPAR remodeling during early stages of
606 pathology

607 **Selective alterations in reward-related behavior and dopaminergic hypoactivity in**
608 **the nAc of APP/PS1 mice at pre-plaque AD stages.**

609 To determine whether early synaptic alterations in the nAc of APP/PS1 mice are
610 accompanied by changes in dopaminergic signaling, dopamine dynamics were assessed
611 using the genetically encoded fluorescent sensor dLight1.1 stereotaxically expressed in
612 the nAc (Fig. 7A). Acute slice photometry revealed that electrical stimulation evoked
613 robust dopamine-dependent fluorescence transients in nAc-containing slices from WT
614 mice, whereas responses were significantly reduced in slices from APP/PS1 mice (Fig.

615 7B). Consistently, input–output curves showed a marked reduction in normalized
616 dLight1.1 signals across stimulation intensities in APP/PS1 mice compared with WT
617 controls (Fig. 7C), indicating impaired evoked dopaminergic signaling in the nAc at pre-
618 plaque stages.

619 We next examined whether this dopaminergic hypoactivity was associated with
620 alterations in reward-related behavior. Using a chocolate-based conditioned place
621 preference (CPP) paradigm (Fig. 7D), mice first underwent a pre-conditioning session to
622 assess baseline context preference. During this phase, APP/PS1 mice exhibited a
623 significant bias toward the small-grid context, whereas WT mice showed no preference
624 (Fig. 7E), indicating altered baseline exploratory behavior in the absence of reward.
625 During conditioning, the chocolate-paired context (CS+) was counterbalanced based on
626 individual baseline preference. In the CPP test, both WT and APP/PS1 mice spent
627 significantly more time in the reward-associated context compared with the non-rewarded
628 context (Fig. 7F), demonstrating intact associative learning in both genotypes, with a
629 differential expression of reward-related behavior in APP/PS1 mice.

630 Despite comparable associative learning, APP/PS1 mice consumed significantly more
631 chocolate across conditioning sessions than WT mice (Fig. 7G), whereas standard pellet
632 consumption did not differ between genotypes (Fig. 7H). This selective increase in
633 palatable reward intake suggests altered reward valuation rather than generalized
634 changes in feeding behavior.

635 To assess whether these behavioral alterations extended to other affective or social
636 domains, anxiety-like behavior and sociability were evaluated using the elevated plus
637 maze and a three-chamber social interaction paradigm, respectively (Fig. S5). WT and

638 APP/PS1 mice displayed comparable anxiety-related measures, including time spent in
639 open and closed arms, number of arm entries, and total distance traveled (Fig. S5A–G).
640 Similarly, both genotypes exhibited intact social preference and social novelty, with no
641 differences in chamber occupancy or interaction time (Fig. S5I–M).

642 Together, these results indicate that dopaminergic hypoactivity in the nAc of APP/PS1
643 mice is associated with selective alterations in reward-related behavior, while anxiety-like
644 and social behaviors remain preserved at this stage. Notably, these circuit-level and
645 behavioral changes emerge during pre-plaque stages, supporting the notion that
646 accumbal dysfunction precedes extracellular A β deposition.

647 Together, these results indicate that dopaminergic hypoactivity in the nAc of APP/PS1
648 mice is associated with selective alterations in reward-related behavior, while anxiety-like
649 and social behaviors remain preserved at this stage. Notably, these circuit-level and
650 behavioral changes emerge during pre-plaque stages, supporting the notion that
651 accumbal dysfunction precedes extracellular A β deposition.

652 **DISCUSSION**

653 While AD has been predominantly investigated in cortical and hippocampal circuits, our
654 findings identify an early, cell-type-specific disruption of synaptic plasticity within the nAc
655 during pre-plaque stages of A β pathology. We show that LTD is selectively impaired in
656 D1R+ MSNs, accompanied by altered AMPAR-mediated signaling and reduced
657 dopaminergic tone within the accumbal circuit. These synaptic alterations occur in the
658 absence of extracellular A β plaque deposition and are temporally associated with
659 selective changes in reward-related behavior, whereas anxiety-like responses and social

660 interaction remain preserved. Together, these results indicate that early AD involves a
661 selective vulnerability of synaptic and neuromodulatory mechanisms in accumbal D1R+
662 MSNs, supporting the notion that non-cognitive manifestations emerge from circuit-level
663 imbalance prior to overt cognitive decline (Fig. 8).

664 AD is increasingly recognized as a disorder that perturbs distributed neural circuits well
665 before memory impairment becomes clinically evident (Baez et al., 2023; Scaduto et al.,
666 2023). Growing clinical and experimental evidence indicates that non-cognitive symptoms
667 frequently emerge at early stages of the disease and are associated with alterations in
668 limbic and reward-related circuits (Frank et al., 2025; Masters et al., 2015; Zufferey et al.,
669 2020). These early manifestations suggest that subcortical structures involved in
670 motivational and affective processing are engaged during initial phases of AD; however,
671 the synaptic and cellular mechanisms underlying this early vulnerability remain
672 insufficiently characterized (Krashia et al., 2019; Riffo-Lepe et al., 2025).

673 The nAc is a central integrative hub of the mesolimbic system that plays a critical role in
674 motivational and reward-related processing (Floresco, 2015; Vieitas-Gaspar et al., 2025),
675 positioning it as a relevant contributor to early disease phenotypes. In humans, nAc
676 atrophy has been reported in patients with AD and correlates with cognitive performance,
677 while epidemiological studies indicate that systemic inflammatory conditions are
678 associated with an increased risk of developing AD and with reduced functional
679 connectivity between the nAc and cortical regions involved in decision-making and
680 inhibitory control (Contreras et al., 2020; Nie et al., 2017). Despite these observations,
681 the nAc has remained relatively underexplored in experimental models of AD. By focusing
682 on the nAc during pre-plaque stages, the present study addresses this gap and supports

683 the notion that early AD pathology cannot be fully explained by hippocampal and cortical
684 dysfunction alone.

685 A critical factor in interpreting Alzheimer's disease mechanisms is the disease stage at
686 which pathology is examined (Frisoni, 2012; Rizzo-Lepe et al., 2025). Most experimental
687 studies have focused on advanced phases characterized by extracellular amyloid plaque
688 deposition and overt cognitive impairment (Cline et al., 2018; Iulita et al., 2014; Jeremic
689 et al., 2021; Wirths et al., 2001). In contrast, converging evidence from human tissue and
690 animal models indicates that intraneuronal A β accumulation, alterations in excitatory
691 neurotransmission, and neuropsychiatric symptoms emerge prior to plaque formation
692 (Chang et al., 2025; Daini et al., 2021; Drummond et al., 2022; Pensalfini et al., 2014).
693 Consistent with this view, transgenic mouse models exhibit distinct temporal trajectories
694 of pathology, supporting the existence of an early disease phase in which cellular and
695 synaptic alterations precede the appearance of classical neuropathological hallmarks
696 (Belfiore et al., 2019; Youmans et al., 2012; Zhong et al., 2024).

697 A central finding of this study is the progressive and cell-type-specific disruption of LTD
698 in the nAc during early stages of AD. LTD was preserved at 3 months of age but was
699 markedly impaired at 6 months, indicating a gradual loss of synaptic plasticity as
700 pathology progresses. Notably, although intraneuronal A β accumulation was comparable
701 in D1R-positive and D1R-negative MSNs, LTD impairment was selectively observed in
702 D1R-expressing neurons. This dissociation suggests that intraneuronal A β accumulation
703 alone is insufficient to account for the loss of synaptic plasticity. Instead, our data support
704 the notion that intrinsic features linked to neuronal subtype identity shape the cellular
705 response to A β and confer selective vulnerability at the synaptic level. This interpretation

706 aligns with recent evidence showing that neuronal subtype identity governs amyloid-
707 associated cellular responses and functional outcomes independently of overall A β
708 burden (Perez et al., 2026), extending this concept to early, intracellular A β -associated
709 synaptic dysfunction in a mesolimbic circuit.

710 The selective vulnerability of D1R+ MSNs observed in this study parallels findings from
711 addiction and withdrawal models, in which synaptic plasticity and AMPAR remodeling are
712 preferentially disrupted in D1R+ MSNs within the nAc (Hwang et al., 2025; Wong et al.,
713 2022). These observations suggest that distinct pathological conditions may converge on
714 shared mechanisms that selectively destabilize synaptic regulation in this neuronal
715 population. Supporting this notion, dietary restriction in mice has been shown to reduce
716 dopamine release in the nAc, leading to compensatory alterations in D1R-dependent
717 signaling that promote AMPAR remodeling and enhance reward-seeking behavior relative
718 to unrestricted feeding conditions (Italia et al., 2025). Together, these studies reinforce
719 the idea that D1R+ MSNs represent a common site of synaptic vulnerability across
720 conditions characterized by altered dopaminergic tone and disrupted excitatory
721 homeostasis.

722 Our data identify the aberrant AMPAR subunit remodeling as a prominent synaptic
723 alteration associated with the loss of LTD in D1R-expressing MSNs. Increased inward
724 rectification, enhanced sensitivity to NASPM, a reduced AMPAR/NMDAR ratio measured
725 at +40 mV, and increased AMPAR-dependent Ca²⁺ component revealed by GCaMP-
726 based imaging together support the functional enrichment of CP- AMPARs at accumbal
727 synapses in APP/PS1 mice. Importantly, although both HFS-induced LTD and mGluR1/5-
728 dependent LTD were impaired at 6 months of age in APP/PS1 mice, cell-type-resolved

729 analyses in APP/PS1/D1RtdTomato animals indicate that these synaptic alterations are
730 selectively expressed in D1R+ MSNs, identifying this neuronal population as a principal
731 substrate of early plasticity deficits in the nAc.

732 The alteration of CP-AMPA receptors in D1R+ MSNs during pre-plaque stages is likely to reflect
733 convergent disruptions in glutamatergic and dopaminergic signaling. One contributing
734 factor may be the impairment of mGluR1/5-dependent synaptic plasticity, which under
735 physiological conditions constrains excitatory strength by promoting AMPAR endocytosis
736 and subunit exchange, thereby favoring the removal of GluA2-lacking CP-AMPA receptors and
737 the stabilization of GluA2-containing AMPARs with lower conductance (Mango &
738 Ledonne, 2023). In this context, the persistent synaptic enrichment of CP-AMPA receptors
739 observed in D1R+ MSNs is consistent with compromised mGluR1/5-dependent plasticity.
740 Supporting this interpretation, pharmacological blockade of CP-AMPA receptors was sufficient to
741 unmask mGluR1/5-dependent synaptic depression in D1R+ MSNs, indicating that
742 abnormal CP-AMPA receptor retention functionally interferes with the expression of this form of
743 LTD rather than acting as its primary cause.

744 These findings align with forms of synaptic plasticity dysfunction described in other
745 pathological contexts. In addiction models, the accumulation of CP-AMPA receptors in accumbal
746 MSNs is associated with impaired mGluR1/5-dependent LTD and persistent reward-
747 seeking behavior (Kawa et al., 2022; Wong et al., 2022). In the context of AD, Valdivia et
748 al. reported an age-dependent decline in hippocampal mGluR-dependent LTD in
749 APP/PS1 mice using extracellular field recordings at CA3–CA1 synapses, with
750 preservation at 2 months and a marked reduction by 8 months of age (Valdivia et al.,
751 2023). Building on these observations, the present study combines intracellular

752 recordings with genetic cell-type identification to demonstrate that mGluR-LTD
753 dysfunction emerges earlier in a mesolimbic structure and is selectively expressed in
754 D1R+ MSNs, where it coincides with persistent synaptic incorporation of CP-AMPARs.
755 Together, these results emphasize that the expression of mGluR1/5-dependent plasticity
756 deficits in AD is strongly shaped by circuit context, disease stage, and neuronal subtype.

757 The selective vulnerability of D1R+ MSNs is likely related to their strong dependence on
758 dopaminergic tone. D1 receptors exhibit lower affinity for dopamine than D2 receptors,
759 rendering D1R+ MSNs particularly sensitive to reductions in dopamine availability
760 (Gerlach et al., 2003; Richfield et al., 1989). Consistent with this framework, we observed
761 reduced dopamine-dependent signaling in the nAc at 6 months of age using a genetically
762 encoded dopamine sensor. These findings align with previous reports showing that
763 dopamine release in the nAc is already diminished during pre-plaque stages in APPswe
764 mice, together with compensatory changes in dopamine transporter expression (Nobili et
765 al., 2017). Although the present data do not allow discrimination between impaired
766 presynaptic release, dopaminergic terminal dysfunction, or early alterations in the integrity
767 of dopaminergic VTA neurons, any reduction in dopamine availability would be expected
768 to disproportionately weaken D1R-mediated signaling.

769 Such dopaminergic hypoactivity may converge with A β -driven postsynaptic alterations to
770 destabilize direct pathway function during early stages of AD. In support of this idea,
771 Whitcomb et al. demonstrated that intracellular perfusion of A β oligomers into
772 hippocampal neurons rapidly increases surface GluA1 expression and promotes CP-
773 AMPAR insertion through a PKA-dependent mechanism (Whitcomb et al., 2015). A
774 reduction in dopaminergic tone may therefore weaken physiological D1R–PKA coupling,

775 generating conditions in which intraneuronal A β aberrantly engages PKA signaling to
776 drive GluA1 membrane insertion. In contrast, D2R signaling suppresses adenylyl cyclase
777 activity and limits PKA activation (Beaulieu & Gainetdinov, 2011), potentially restricting
778 this mechanism in D1R⁻ MSNs and contributing to their relative resilience. Together,
779 impaired mGluR1/5-dependent AMPAR endocytosis and A β -associated GluA1 insertion
780 would bias synapses toward persistent CP-AMPAR enrichment, providing a mechanistic
781 framework for the selective loss of LTD observed in D1R⁺ MSNs during early Alzheimer's
782 disease.

783 In agreement with the present findings, Aguado et al. reported increased CP-AMPAR
784 expression in the hippocampus of APP^{swe} mice at advanced disease stages, particularly
785 in animals exhibiting a vulnerable phenotype (Aguado et al., 2024). Notably, mGluR5
786 expression was selectively reduced in vulnerable APP^{swe} mice but preserved in resilient
787 animals, paralleling the normalization of CP-AMPAR levels (Aguado et al., 2024). These
788 observations suggest that coordinated regulation of mGluR1/5 signaling and CP-AMPAR
789 composition may modulate synaptic vulnerability across disease stages and brain
790 regions. Complementing this view, Guo et al. demonstrated that acute exposure to
791 exogenous oligomeric A β in the nAc of young WT mice induces synaptic incorporation of
792 CP-AMPARs, leading to spine loss, synaptic weakening, and motivational deficits (Guo
793 et al., 2022). Importantly, this model reflects extracellular A β -driven pathology and
794 preferentially affects D2 MSNs, in contrast to our findings showing that endogenous
795 intraneuronal A β accumulation during early stages is associated with selective CP-
796 AMPAR incorporation in D1R⁺ MSNs. Together, these studies support CP-AMPAR
797 dysregulation as a convergent mechanism contributing to synaptic dysfunction across

798 disease stages, while emphasizing that the cellular context and subcellular localization of
799 A β critically shape its synaptic consequences.

800 The nucleus accumbens functions as a key inhibitory hub within the mesolimbic circuit,
801 regulating reward-related signal gain through the integration of glutamatergic inputs and
802 dopaminergic modulation (Russo & Nestler, 2013). The selective loss of LTD in D1R+
803 MSNs is therefore expected to bias circuit output toward enhanced direct pathway activity,
804 reducing the ability of the nAc to constrain excitatory drive and favoring heightened
805 reward-seeking responses. In parallel, reduced dopaminergic tone may further attenuate
806 D1R signaling, potentially promoting compensatory increases in reward consumption to
807 achieve comparable motivational salience. Consistent with this framework, both
808 genotypes exhibited comparable conditioned place preference, indicating preserved
809 associative learning and contextual preference, and no differences were detected in
810 anxiety-like behavior or social interaction. However, APP/PS1 mice displayed a selective
811 increase in consumption of palatable solid food, while intake of standard chow remained
812 unchanged. Together, these findings indicate that early synaptic dysfunction within the
813 nAc is associated with altered hedonic valuation rather than deficits in reward learning or
814 broader affective behaviors.

815 Some limitations should be considered when interpreting these findings. First, all
816 experiments were conducted exclusively in male mice, precluding assessment of sex-
817 specific mechanisms. This limitation is particularly relevant given accumulating evidence
818 that estradiol signaling strongly modulates synaptic plasticity within the nucleus
819 accumbens. Estradiol, acting through mGluR5- and endocannabinoid-dependent
820 pathways, has been shown to remodel accumbal reward circuits and enhance sensitivity

821 to psychostimulants, underscoring a tight interaction between hormonal state and
822 mesolimbic plasticity (Peterson et al., 2016), highlighting a strong interaction between
823 hormonal state and mesolimbic plasticity. In addition, a recent study shows that synaptic
824 plasticity within the nAc relies on distinct molecular pathways in males and females,
825 despite comparable plasticity outcomes. For example, Copenhaver and LeGates
826 demonstrated that long-term potentiation at hippocampus–nucleus accumbens synapses
827 depends on NMDAR-mediated calcium signaling in males, but on L-type calcium
828 channels and estrogen receptor α signaling in females (Copenhaver & LeGates, 2024).
829 Second, although our data reveal a robust association between intraneuronal A β
830 accumulation and synaptic alterations, the APP/PS1 model does not allow definitive
831 attribution of these effects exclusively to A β . Nevertheless, converging evidence supports
832 a direct role for intraneuronal A β in modulating excitatory synaptic function. Fernández-
833 Pérez et al. demonstrated that intraneuronal A β enhances neuronal synchronization and
834 AMPAR-mediated transmission (Fernandez-Perez et al., 2021), while Saavedra et al.
835 reported increased intraneuronal A β levels together with augmented CP-AMPARs
836 mediated currents in cultured nAc MSNs derived from APP/PS1 mice (Saavedra-Sieyes
837 et al., 2025). Together, these observations support a contributory role for intraneuronal
838 A β in the synaptic alterations described here, while emphasizing the need for future
839 studies that incorporate sex as a biological variable and employ strategies enabling
840 selective manipulation of intraneuronal A β to establish causal relationships.

841 In conclusion, this study identifies early synaptic alterations in which intraneuronal A β
842 accumulation is associated with disrupted AMPAR subunit composition, selective
843 impairment of LTD in D1R+ MSNs, and reduced dopaminergic signaling in the nAc prior

844 to extracellular A β plaque deposition. These synaptic changes are accompanied by
845 specific alterations in hedonic behavior, while associative learning, anxiety-like behavior,
846 and social interaction remain preserved. Together, these findings support the view that
847 early non-cognitive manifestations of Alzheimer's disease reflect circuit-level imbalance
848 rather than late-stage neurodegeneration. By identifying the nAc as an early site of
849 vulnerability, this work highlights the importance of neuronal subtype identity and
850 signaling context in shaping susceptibility to intraneuronal A β -associated synaptic
851 dysfunction.

852 **Abbreviations**

853 AD: Alzheimer's disease

854 A β : Amyloid beta

855 APP/PS1: Amyloid precursor protein / presenilin-1 transgenic mouse model

856 AMPAR: α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor

857 CP-AMPA: Calcium-permeable AMPA receptor

858 GluA2: AMPA receptor subunit 2

859 NMDAR: N-methyl-D-aspartate receptor

860 LTD: Long-term depression

861 HFS: High-frequency stimulation

862 mGluR: Metabotropic glutamate receptor

863 mGluR-LTD: mGluR-dependent long-term depression

864 D1R: Dopamine D1 receptor

865 D2R: Dopamine D2 receptor

866 MSN: Medium spiny neuron

867 D1R+ MSN: Dopamine D1 receptor–expressing medium spiny neuron

868 D1R– MSN: Dopamine D1 receptor–negative medium spiny neuron

869 nAc: Nucleus accumbens

870 eEPSC: Evoked excitatory postsynaptic current

871 PPR: Paired-pulse ratio

872 RI: Rectification index

873 PKA: Protein kinase A

874 VTA: Ventral tegmental area

875 WT: Wild type

876

877

878

879

880

881

882

883

884

885

886 **Supplementary information**

887 **Acknowledgements**

888 We thank Laurie Aguayo, Helena Zambrano, and Ailine Riquelme for technical

889 assistance, as well as Jocelyn González and Ixia Cid for support during experimental

890 procedures. We also acknowledge Carolina Benítez (CREAV-UDEC) and Claudia

891 Ramírez for veterinary assistance. We thank Lauren Aguayo and Mauricio Avendaño
892 Valenzuela (Universidad de Concepción, Chile) for assistance with language editing.

893 **Author contributions**

894 N.R.L.: Conceptualization, methodology, investigation, formal analysis, data curation,
895 visualization, writing – original draft, writing – review & editing. Designed all main figures
896 (Figs. 1–6, 8) and the graphical abstract. Performed all experiments and data analyses
897 for Figs. 1–6, 8 and Supplementary Figs. S1, S2, and S4. Supervised and validated data
898 corresponding to experiments not directly performed by the author. J.G.S.: Investigation
899 (Supplementary Fig. S5), data interpretation, writing – review & editing. I.M.: Investigation
900 (Supplementary Fig. S4 recordings), genotyping, data acquisition and analysis (Fig. 1),
901 writing – review & editing. P.S.S.: Investigation and formal analysis (Supplementary Fig.
902 S3), writing – review & editing. L.A.W.: Investigation and formal analysis (Fig. 7), writing
903 – review & editing, funding acquisition. A.S.: Methodology, supervision of GCaMP and
904 dLight photometric recordings, data interpretation, writing – review & editing. L.S.M.:
905 Conceptualization, supervision, writing – review & editing, funding acquisition. L.G.A.:
906 Conceptualization, supervision, writing – review & editing, project administration, funding
907 acquisition.

908 **Funding**

909 This work was supported by ANID Fondecyt Regular grant 1221080 (L.A.), NIH grant
910 R01AA025718 (L.A.), ANID PhD fellowship 21202521 (N.R.L.), Fondecyt Iniciación
911 11251074 (L.A.W), and Fondecyt Iniciación 11250551 (L.S.M.).

912 **Declaration**

913 **Ethical approval**

914 Not applicable. No human subjects.

915 **Declaration of generative AI and AI-assisted technologies in the manuscript**
916 **preparation process**

917 During the preparation of this work the authors used ChatGPT 5.2 to revise the text. After
918 using this LLM, the authors reviewed and edited the content for a further evaluation by an
919 English traductor who reviewed the full manuscript and suggested final corrections. The
920 authors take full responsibility for the content of the published article.

921 **Data availability**

922 The data supporting the findings of this study are available from the corresponding author
923 upon request.

924 **Competing interests**

925 The authors declare no competing interest.

926 **References**

- 927 Ade, K. K., Wan, Y., Chen, M., Gloss, B., & Calakos, N. (2011). An Improved BAC Transgenic
928 Fluorescent Reporter Line for Sensitive and Specific Identification of Striatonigral Medium
929 Spiny Neurons. *Front Syst Neurosci*, 5, 32. <https://doi.org/10.3389/fnsys.2011.00032>
- 930 Aguado, C., Badesso, S., Martinez-Hernandez, J., Martin-Belmonte, A., Alfaro-Ruiz, R., Fernandez,
931 M., Moreno-Martinez, A. E., Cuadrado-Tejedor, M., Garcia-Osta, A., & Lujan, R. (2024).
932 Resilience to structural and molecular changes in excitatory synapses in the hippocampus
933 contributes to cognitive function recovery in Tg2576 mice [Research Article]. *Neural Regen*
934 *Res*, 19(9), 2068-2074. <https://doi.org/10.4103/1673-5374.390963>
- 935 Alcantara-Gonzalez, D., Kennedy, M., Criscuolo, C., Botterill, J., & Scharfman, H. E. (2025).
936 Increased excitability of dentate gyrus mossy cells occurs early in life in the Tg2576 model
937 of Alzheimer's disease [Research Article]. *Alzheimers Res Ther*, 17(1), 105.
938 <https://doi.org/10.1186/s13195-025-01747-1>
- 939 Armijo-Weingart, L., San Martin, L., Gallegos, S., Araya, A., Konar-Nie, M., Fernandez-Perez, E., &
940 Aguayo, L. G. (2024). Loss of glycine receptors in the nucleus accumbens and ethanol
941 reward in an Alzheimer s Disease mouse model [Research Article]. *Prog Neurobiol*, 237,
942 102616. <https://doi.org/10.1016/j.pneurobio.2024.102616>

943 Baez, S., Trujillo-Llano, C., de Souza, L. C., Lillo, P., Forno, G., Santamaria-Garcia, H., Okuma, C.,
944 Alegria, P., Huepe, D., Ibanez, A., Decety, J., & Slachevsky, A. (2023). Moral Emotions and
945 Their Brain Structural Correlates Across Neurodegenerative Disorders. *J Alzheimers Dis*,
946 92(1), 153-169. <https://doi.org/10.3233/JAD-221131>

947 Beaulieu, J. M., & Gainetdinov, R. R. (2011). The physiology, signaling, and pharmacology of
948 dopamine receptors. *Pharmacol Rev*, 63(1), 182-217.
949 <https://doi.org/10.1124/pr.110.002642>

950 Belfiore, R., Rodin, A., Ferreira, E., Velazquez, R., Branca, C., Caccamo, A., & Oddo, S. (2019).
951 Temporal and regional progression of Alzheimer's disease-like pathology in 3xTg-AD mice.
952 *Aging Cell*, 18(1), e12873. <https://doi.org/10.1111/accel.12873>

953 Carr, K. D. (2020). Homeostatic regulation of reward via synaptic insertion of calcium-permeable
954 AMPA receptors in nucleus accumbens. *Physiol Behav*, 219, 112850.
955 <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2020.112850>

956 Chang, M., Krussel, S., Parajuli, L. K., Kim, J., Lee, D., Merodio, A., Kwon, J., Okabe, S., & Kwon, H.
957 B. (2025). Intercellular communication in the brain through a dendritic nanotubular network
958 [Research Article]. *Science*, 390(6768), eadr7403. <https://doi.org/10.1126/science.adr7403>

959 Cline, E. N., Bicca, M. A., Viola, K. L., & Klein, W. L. (2018). The Amyloid-beta Oligomer Hypothesis:
960 Beginning of the Third Decade. *J Alzheimers Dis*, 64(s1), S567-S610.
961 <https://doi.org/10.3233/JAD-179941>

962 Conrad, K. L., Tseng, K. Y., Uejima, J. L., Reimers, J. M., Heng, L. J., Shaham, Y., Marinelli, M., &
963 Wolf, M. E. (2008). Formation of accumbens GluR2-lacking AMPA receptors mediates
964 incubation of cocaine craving. *Nature*, 454(7200), 118-121.
965 <https://doi.org/10.1038/nature06995>

966 Contreras, J. A., Aslanyan, V., Sweeney, M. D., Sanders, L. M. J., Sagare, A. P., Zlokovic, B. V., Toga,
967 A. W., Han, S. D., Morris, J. C., Fagan, A., Massoumzadeh, P., Benzinger, T. L., & Pa, J.
968 (2020). Functional connectivity among brain regions affected in Alzheimer's disease is
969 associated with CSF TNF-alpha in APOE4 carriers. *Neurobiol Aging*, 86, 112-122.
970 <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2019.10.013>

971 Copenhaver, A. E., & LeGates, T. A. (2024). Sex-Specific Mechanisms Underlie Long-Term
972 Potentiation at Hippocampus-->Medium Spiny Neuron Synapses in the Medial Shell of the
973 Nucleus Accumbens. *J Neurosci*, 44(27). [https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0100-](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0100-24.2024)
974 [24.2024](https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.0100-24.2024)

975 Cordella, A., Krashia, P., Nobili, A., Pignataro, A., La Barbera, L., Viscomi, M. T., Valzania, A., Keller,
976 F., Ammassari-Teule, M., Mercuri, N. B., Berretta, N., & D'Amelio, M. (2018). Dopamine loss
977 alters the hippocampus-nucleus accumbens synaptic transmission in the Tg2576 mouse
978 model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Dis*, 116, 142-154.
979 <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2018.05.006>

980 Cull-Candy, S. G., & Farrant, M. (2021). Ca(2+) -permeable AMPA receptors and their auxiliary
981 subunits in synaptic plasticity and disease. *J Physiol*, 599(10), 2655-2671.
982 <https://doi.org/10.1113/JP279029>

983 Daini, E., Secco, V., Liao, W., Zoli, M., & Vilella, A. (2021). A regional and cellular analysis of the
984 early intracellular and extracellular accumulation of Abeta in the brain of 5XFAD mice.
985 *Neurosci Lett*, 754, 135869. <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2021.135869>

986 de Jong, L. W., Wang, Y., White, L. R., Yu, B., van Buchem, M. A., & Launer, L. J. (2012). Ventral
987 striatal volume is associated with cognitive decline in older people: a population based MR-
988 study. *Neurobiol Aging*, 33(2), 424 e421-410.
989 <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2010.09.027>

990 Drummond, E., Kavanagh, T., Pires, G., Marta-Ariza, M., Kanshin, E., Nayak, S., Faustin, A., Berdah,
991 V., Ueberheide, B., & Wisniewski, T. (2022). The amyloid plaque proteome in early onset
992 Alzheimer's disease and Down syndrome. *Acta Neuropathol Commun*, *10*(1), 53.
993 <https://doi.org/10.1186/s40478-022-01356-1>

994 Dubois, B., Villain, N., Schneider, L., Fox, N., Campbell, N., Galasko, D., Kivipelto, M., Jessen, F.,
995 Hanseeuw, B., Boada, M., Barkhof, F., Nordberg, A., Froelich, L., Waldemar, G.,
996 Frederiksen, K. S., Padovani, A., Planche, V., Rowe, C., Bejanin, A.,...Frisoni, G. B. (2024).
997 Alzheimer Disease as a Clinical-Biological Construct-An International Working Group
998 Recommendation [Research Article]. *JAMA Neurol*, *81*(12), 1304-1311.
999 <https://doi.org/10.1001/jamaneurol.2024.3770>

1000 Fernández-Pérez, E. J., Gallegos, S., Armijo-Weingart, L., Araya, A., Riffo-Lepe, N. O., Cayuman, F.,
1001 & Aguayo, L. G. (2020). Changes in neuronal excitability and synaptic transmission in
1002 nucleus accumbens in a transgenic Alzheimer's disease mouse model. *Sci Rep*, *10*(1),
1003 19606. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76456-w>

1004 Fernandez-Perez, E. J., Munoz, B., Bascunan, D. A., Peters, C., Riffo-Lepe, N. O., Espinoza, M. P.,
1005 Morgan, P. J., Filippi, C., Bourboulou, R., Sengupta, U., Kayed, R., Epsztein, J., & Aguayo, L.
1006 G. (2021). Synaptic dysregulation and hyperexcitability induced by intracellular amyloid
1007 beta oligomers. *Aging Cell*, *20*(9), e13455. <https://doi.org/10.1111/ace1.13455>

1008 Floresco, S. B. (2015). The nucleus accumbens: an interface between cognition, emotion, and
1009 action. *Annu Rev Psychol*, *66*, 25-52. <https://doi.org/10.1146/annurev-psych-010213-115159>

1010

1011 Frank, P., Singh-Manoux, A., Pentti, J., Batty, G. D., Sommerlad, A., Steptoe, A., Livingston, G.,
1012 Howard, R., & Kivimaki, M. (2025). Specific midlife depressive symptoms and long-term
1013 dementia risk: a 23-year UK prospective cohort study [Research Article]. *Lancet Psychiatry*.
1014 [https://doi.org/10.1016/S2215-0366\(25\)00331-1](https://doi.org/10.1016/S2215-0366(25)00331-1)

1015 Frisoni, G. B. (2012). Alzheimer disease: biomarker trajectories across stages of Alzheimer disease.
1016 *Nat Rev Neurol*, *8*(6), 299-300. <https://doi.org/10.1038/nrneurol.2012.81>

1017 Gerlach, M., Double, K., Arzberger, T., Leblhuber, F., Tatschner, T., & Riederer, P. (2003). Dopamine
1018 receptor agonists in current clinical use: comparative dopamine receptor binding profiles
1019 defined in the human striatum. *J Neural Transm (Vienna)*, *110*(10), 1119-1127.
1020 <https://doi.org/10.1007/s00702-003-0027-5>

1021 Guntupalli, S., Jang, S. E., Zhu, T., Haganir, R. L., Widagdo, J., & Anggono, V. (2017). GluA1 subunit
1022 ubiquitination mediates amyloid-beta-induced loss of surface alpha-amino-3-hydroxy-5-
1023 methyl-4-isoxazolepropionic acid (AMPA) receptors. *J Biol Chem*, *292*(20), 8186-8194.
1024 <https://doi.org/10.1074/jbc.M116.774554>

1025 Guo, C., Wen, D., Zhang, Y., Mustaklem, R., Mustaklem, B., Zhou, M., Ma, T., & Ma, Y. Y. (2022).
1026 Amyloid-beta oligomers in the nucleus accumbens decrease motivation via insertion of
1027 calcium-permeable AMPA receptors. *Mol Psychiatry*, *27*(4), 2146-2157.
1028 <https://doi.org/10.1038/s41380-022-01459-0>

1029 Henley, J. M., & Wilkinson, K. A. (2016). Synaptic AMPA receptor composition in development,
1030 plasticity and disease. *Nat Rev Neurosci*, *17*(6), 337-350.
1031 <https://doi.org/10.1038/nrn.2016.37>

1032 Hwang, E.-K., Wunsch, A. M., & Wolf, M. E. (2025). Retinoic acid-mediated homeostatic plasticity
1033 drives cell type-specific CP-AMPA accumulation in nucleus accumbens core and
1034 incubation of cocaine craving [Research Article]. *Molecular Psychiatry*, *30*(7), 3175-3187.
1035 <https://doi.org/10.1038/s41380-025-03026-9>

1036 Italia, M., Scheggia, D., DiLuca, M., & Gardoni, F. (2025). What's in your plate?AMPA receptors
1037 modulation at the crossroads of homeostatic and hedonic eating [Review]. *Pharmacol Res*,
1038 217, 107821. <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2025.107821>

1039 Iulita, M. F., Allard, S., Richter, L., Munter, L. M., Ducatenzeiler, A., Weise, C., Do Carmo, S., Klein,
1040 W. L., Multhaup, G., & Cuello, A. C. (2014). Intracellular Abeta pathology and early cognitive
1041 impairments in a transgenic rat overexpressing human amyloid precursor protein: a
1042 multidimensional study. *Acta Neuropathol Commun*, 2, 61. <https://doi.org/10.1186/2051-5960-2-61>

1044 Jankowsky, J. L., Slunt, H. H., Ratovitski, T., Jenkins, N. A., Copeland, N. G., & Borchelt, D. R. (2001).
1045 Co-expression of multiple transgenes in mouse CNS: a comparison of strategies. *Biomol*
1046 *Eng*, 17(6), 157-165. [https://doi.org/10.1016/s1389-0344\(01\)00067-3](https://doi.org/10.1016/s1389-0344(01)00067-3)

1047 Jeremic, D., Jimenez-Diaz, L., & Navarro-Lopez, J. D. (2021). Past, present and future of therapeutic
1048 strategies against amyloid-beta peptides in Alzheimer's disease: a systematic review.
1049 *Ageing Res Rev*, 72, 101496. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2021.101496>

1050 Kauer, J. A., & Malenka, R. C. (2007). Synaptic plasticity and addiction. *Nat Rev Neurosci*, 8(11),
1051 844-858. <https://doi.org/10.1038/nrn2234>

1052 Kawa, A. B., Hwang, E. K., Funke, J. R., Zhou, H., Costa-Mattioli, M., & Wolf, M. E. (2022). Positive
1053 Allosteric Modulation of mGlu(1) Reverses Cocaine-Induced Behavioral and Synaptic
1054 Plasticity Through the Integrated Stress Response and Oligophrenin-1. *Biol Psychiatry*,
1055 92(11), 871-879. <https://doi.org/10.1016/j.biopsych.2022.05.008>

1056 Kelly, L., Seifi, M., Ma, R., Mitchell, S. J., Rudolph, U., Viola, K. L., Klein, W. L., Lambert, J. J., &
1057 Swinny, J. D. (2021). Identification of intraneuronal amyloid beta oligomers in locus
1058 coeruleus neurons of Alzheimer's patients and their potential impact on inhibitory
1059 neurotransmitter receptors and neuronal excitability. *Neuropathol Appl Neurobiol*, 47(4),
1060 488-505. <https://doi.org/10.1111/nan.12674>

1061 Krashia, P., Nobili, A., & D'Amelio, M. (2019). Unifying Hypothesis of Dopamine Neuron Loss in
1062 Neurodegenerative Diseases: Focusing on Alzheimer's Disease. *Front Mol Neurosci*, 12,
1063 123. <https://doi.org/10.3389/fnmol.2019.00123>

1064 Kuhse, J., Groeneweg, F., Kins, S., Gorgas, K., Nawrotzki, R., Kirsch, J., & Kiss, E. (2023). Loss of
1065 Extrasynaptic Inhibitory Glycine Receptors in the Hippocampus of an AD Mouse Model Is
1066 Restored by Treatment with Artesunate. *Int J Mol Sci*, 24(5).
1067 <https://doi.org/10.3390/ijms24054623>

1068 LaFerla, F. M., Green, K. N., & Oddo, S. (2007). Intracellular amyloid-beta in Alzheimer's disease.
1069 *Nat Rev Neurosci*, 8(7), 499-509. <https://doi.org/10.1038/nrn2168>

1070 Li, G., Hsu, L. M., Wu, Y., Bozoki, A. C., Shih, Y. I., & Yap, P. T. (2025). Revealing excitation-inhibition
1071 imbalance in Alzheimer's disease using multiscale neural model inversion of resting-state
1072 functional MRI [Research Article]. *Commun Med (Lond)*, 5(1), 17.
1073 <https://doi.org/10.1038/s43856-025-00736-7>

1074 Luscher, C., & Huber, K. M. (2010). Group 1 mGluR-dependent synaptic long-term depression:
1075 mechanisms and implications for circuitry and disease. *Neuron*, 65(4), 445-459.
1076 <https://doi.org/10.1016/j.neuron.2010.01.016>

1077 Mango, D., & Ledonne, A. (2023). Updates on the Physiopathology of Group I Metabotropic
1078 Glutamate Receptors (mGluRI)-Dependent Long-Term Depression. *Cells*, 12(12).
1079 <https://doi.org/10.3390/cells12121588>

1080 Masters, M. C., Morris, J. C., & Roe, C. M. (2015). "Noncognitive" symptoms of early Alzheimer
1081 disease: a longitudinal analysis. *Neurology*, 84(6), 617-622.
1082 <https://doi.org/10.1212/WNL.0000000000001238>

1083 McCutcheon, J. E., Loweth, J. A., Ford, K. A., Marinelli, M., Wolf, M. E., & Tseng, K. Y. (2011). Group I
1084 mGluR activation reverses cocaine-induced accumulation of calcium-permeable AMPA
1085 receptors in nucleus accumbens synapses via a protein kinase C-dependent mechanism. *J*
1086 *Neurosci*, 31(41), 14536-14541. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3625-11.2011>

1087 Migeot, J., Pina-Escudero, S. D., Hernandez, H., Gonzalez-Gomez, R., Legaz, A., Fittipaldi, S.,
1088 Resende, E. P. F., Duran-Aniotz, C., Avila-Funes, J. A., Behrens, M. I., Bruno, M. A., Cardona,
1089 J. F., Custodio, N., Garcia, A. M., Godoy, M. E., Hu, K., Lanata, S., Lawlor, B., Lopera,
1090 F.,...Ibanez, A. (2025). Social exposome and brain health outcomes of dementia across
1091 Latin America [Research Article]. *Nat Commun*, 16(1), 8196.
1092 <https://doi.org/10.1038/s41467-025-63277-6>

1093 Muñoz de Leon-Lopez, C. A., Carretero-Rey, M., & Khan, Z. U. (2025). AMPA Receptors in Synaptic
1094 Plasticity, Memory Function, and Brain Diseases [Review]. *Cell Mol Neurobiol*, 45(1), 14.
1095 <https://doi.org/10.1007/s10571-024-01529-7>

1096 Nie, X., Sun, Y., Wan, S., Zhao, H., Liu, R., Li, X., Wu, S., Nedelska, Z., Hort, J., Qing, Z., Xu, Y., &
1097 Zhang, B. (2017). Subregional Structural Alterations in Hippocampus and Nucleus
1098 Accumbens Correlate with the Clinical Impairment in Patients with Alzheimer's Disease
1099 Clinical Spectrum: Parallel Combining Volume and Vertex-Based Approach. *Front Neurol*,
1100 8, 399. <https://doi.org/10.3389/fneur.2017.00399>

1101 Nobili, A., Latagliata, E. C., Viscomi, M. T., Cavallucci, V., Cutuli, D., Giacobazzo, G., Krashia, P.,
1102 Rizzo, F. R., Marino, R., Federici, M., De Bartolo, P., Aversa, D., Dell'Acqua, M. C., Cordella,
1103 A., Sancandi, M., Keller, F., Petrosini, L., Puglisi-Allegra, S., Mercuri, N. B.,...D'Amelio, M.
1104 (2017). Dopamine neuronal loss contributes to memory and reward dysfunction in a model
1105 of Alzheimer's disease. *Nat Commun*, 8, 14727. <https://doi.org/10.1038/ncomms14727>

1106 Ochiishi, T., Kaku, M., Kiyosue, K., Doi, M., Urabe, T., Hattori, N., Shimura, H., & Ebihara, T. (2019).
1107 New Alzheimer's disease model mouse specialized for analyzing the function and toxicity of
1108 intraneuronal Amyloid beta oligomers. *Sci Rep*, 9(1), 17368.
1109 <https://doi.org/10.1038/s41598-019-53415-8>

1110 Ouyang, J., Carcea, I., Schiavo, J. K., Jones, K. T., Rabinowitsch, A., Kolaric, R., Cabeza de Vaca, S.,
1111 Froemke, R. C., & Carr, K. D. (2017). Food restriction induces synaptic incorporation of
1112 calcium-permeable AMPA receptors in nucleus accumbens. *Eur J Neurosci*, 45(6), 826-836.
1113 <https://doi.org/10.1111/ejn.13528>

1114 Pensalfini, A., Albay, R., 3rd, Rasool, S., Wu, J. W., Hatami, A., Arai, H., Margol, L., Milton, S., Poon,
1115 W. W., Corrada, M. M., Kawas, C. H., & Glabe, C. G. (2014). Intracellular amyloid and the
1116 neuronal origin of Alzheimer neuritic plaques. *Neurobiol Dis*, 71, 53-61.
1117 <https://doi.org/10.1016/j.nbd.2014.07.011>

1118 Perez, G. A., Lai, Z., Edwards Iii, G. A., Dundee, J. M., Leahy, S. N., Qi, C., Qi, Y., Park, Y. J., Lu, T. C.,
1119 Uddin, M. D., Zhao, R., Zheng, H., Li, H., & Jankowsky, J. L. (2026). Neuronal subtype
1120 governs amyloid structure, cellular response, and cognitive outcome in genetically targeted
1121 APP mouse models. *Mol Neurodegener*, 21(1), 2. [https://doi.org/10.1186/s13024-025-](https://doi.org/10.1186/s13024-025-00919-9)
1122 [00919-9](https://doi.org/10.1186/s13024-025-00919-9)

1123 Peterson, B. M., Martinez, L. A., Meisel, R. L., & Mermelstein, P. G. (2016). Estradiol impacts the
1124 endocannabinoid system in female rats to influence behavioral and structural responses to
1125 cocaine. *Neuropharmacology*, 110(Pt A), 118-124.
1126 <https://doi.org/10.1016/j.neuropharm.2016.06.002>

1127 Pilotto, A., Galli, A., Sala, A., Caminiti, S. P., Presotto, L., Liguori, C., Mercuri, N. B., Premi, E.,
1128 Garibotto, V., Frisoni, G., Chiaravalloti, A., Schillaci, O., D'Amelio, M., Paghera, B.,
1129 Lucchini, S., Bertagna, F., Perani, D., & Padovani, A. (2025). Dopaminergic deficits along the

1130 spectrum of Alzheimer's disease [Research Article]. *Molecular Psychiatry*.
1131 <https://doi.org/10.1038/s41380-025-02913-5>

1132 Richfield, E. K., Penney, J. B., & Young, A. B. (1989). Anatomical and affinity state comparisons
1133 between dopamine D1 and D2 receptors in the rat central nervous system. *Neuroscience*,
1134 30(3), 767-777. [https://doi.org/10.1016/0306-4522\(89\)90168-1](https://doi.org/10.1016/0306-4522(89)90168-1)

1135 Riffo-Lepe, N., Gonzalez-Sanmiguel, J., Armijo-Weingart, L., Saavedra-Sieyes, P., Hernandez, D.,
1136 Ramos, G., San Martin, L. S., & Aguayo, L. G. (2025). Synaptic and synchronic impairments
1137 in subcortical brain regions associated with early non-cognitive dysfunction in Alzheimer's
1138 disease [Review]. *Neural Regen Res*, 21(1), 248-264. <https://doi.org/10.4103/NRR.NRR-D-24-01052>

1139

1140 Russo, S. J., & Nestler, E. J. (2013). The brain reward circuitry in mood disorders. *Nat Rev Neurosci*,
1141 14(9), 609-625. <https://doi.org/10.1038/nrn3381>

1142 Saavedra-Sieyes, P., Meza, I., Riffo-Lepe, N., San Martin, L., Gonzalez-SanMiguel, J., & Aguayo, L.
1143 G. (2025). Alterations in neuronal excitability and AMPA-mediated neurotransmission in an
1144 APP/PS1 neuronal culture model derived from nucleus accumbens [Research Article]. *J*
1145 *Alzheimers Dis*, 13872877251378468. <https://doi.org/10.1177/13872877251378468>

1146 Scaduto, P., Lauterborn, J. C., Cox, C. D., Fracassi, A., Zeppillo, T., Gutierrez, B. A., Keene, C. D.,
1147 Crane, P. K., Mukherjee, S., Russell, W. K., Taglialatela, G., & Limon, A. (2023). Functional
1148 excitatory to inhibitory synaptic imbalance and loss of cognitive performance in people with
1149 Alzheimer's disease neuropathologic change. *Acta Neuropathol*, 145(3), 303-324.
1150 <https://doi.org/10.1007/s00401-022-02526-0>

1151 Scheyer, A. F., Christian, D. T., Wolf, M. E., & Tseng, K. Y. (2018). Emergence of Endocytosis-
1152 Dependent mGlu1 LTD at Nucleus Accumbens Synapses After Withdrawal From Cocaine
1153 Self-Administration. *Front Synaptic Neurosci*, 10, 36.
1154 <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2018.00036>

1155 Selkoe, D. J., & Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease at 25 years. *EMBO*
1156 *Mol Med*, 8(6), 595-608. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>

1157 Shah, J., Krell-Roesch, J., Forzani, E., Knopman, D. S., Jack, C. R., Petersen, R. C., Che, Y., Wu, T., &
1158 Geda, Y. E. (2025). Predicting cognitive decline from neuropsychiatric symptoms and
1159 Alzheimer's disease biomarkers: A machine learning approach to a population-based data
1160 [Research Article]. *J Alzheimers Dis*, 103(3), 833-843.
1161 <https://doi.org/10.1177/13872877241306654>

1162 Storga, D., Vrecko, K., Birkmayer, J. G., & Reibnegger, G. (1996). Monoaminergic neurotransmitters,
1163 their precursors and metabolites in brains of Alzheimer patients. *Neurosci Lett*, 203(1), 29-
1164 32. [https://doi.org/10.1016/0304-3940\(95\)12256-7](https://doi.org/10.1016/0304-3940(95)12256-7)

1165 Thomas, M. J., Beurrier, C., Bonci, A., & Malenka, R. C. (2001). Long-term depression in the nucleus
1166 accumbens: a neural correlate of behavioral sensitization to cocaine. *Nat Neurosci*, 4(12),
1167 1217-1223. <https://doi.org/10.1038/nn757>

1168 Turner, B. D., Kashima, D. T., Manz, K. M., Grueter, C. A., & Grueter, B. A. (2018). Synaptic Plasticity
1169 in the Nucleus Accumbens: Lessons Learned from Experience. *ACS Chem Neurosci*, 9(9),
1170 2114-2126. <https://doi.org/10.1021/acschemneuro.7b00420>

1171 Valdivia, G., Ardiles, A. O., Idowu, A., Salazar, C., Lee, H. K., Gallagher, M., Palacios, A. G., &
1172 Kirkwood, A. (2023). mGluR-dependent plasticity in rodent models of Alzheimer's disease.
1173 *Front Synaptic Neurosci*, 15, 1123294. <https://doi.org/10.3389/fnsyn.2023.1123294>

1174 Vieitas-Gaspar, N., Soares-Cunha, C., & Rodrigues, A. J. (2025). From valence encoding to
1175 motivated behavior: A focus on the nucleus accumbens circuitry [Review]. *Neurosci*
1176 *Biobehav Rev*, 172, 106125. <https://doi.org/10.1016/j.neubiorev.2025.106125>

1177 Wang, H. W., Pasternak, J. F., Kuo, H., Ristic, H., Lambert, M. P., Chromy, B., Viola, K. L., Klein, W.
1178 L., Stine, W. B., Krafft, G. A., & Trommer, B. L. (2002). Soluble oligomers of beta amyloid (1-
1179 42) inhibit long-term potentiation but not long-term depression in rat dentate gyrus. *Brain*
1180 *Res*, 924(2), 133-140. [https://doi.org/10.1016/s0006-8993\(01\)03058-x](https://doi.org/10.1016/s0006-8993(01)03058-x)

1181 Whitcomb, D. J., Hogg, E. L., Regan, P., Piers, T., Narayan, P., Whitehead, G., Winters, B. L., Kim, D.
1182 H., Kim, E., St George-Hyslop, P., Klenerman, D., Collingridge, G. L., Jo, J., & Cho, K. (2015).
1183 Intracellular oligomeric amyloid-beta rapidly regulates GluA1 subunit of AMPA receptor in
1184 the hippocampus. *Sci Rep*, 5, 10934. <https://doi.org/10.1038/srep10934>

1185 Whitehead, G., Jo, J., Hogg, E. L., Piers, T., Kim, D. H., Seaton, G., Seok, H., Bru-Mercier, G., Son, G.
1186 H., Regan, P., Hildebrandt, L., Waite, E., Kim, B. C., Kerrigan, T. L., Kim, K., Whitcomb, D. J.,
1187 Collingridge, G. L., Lightman, S. L., & Cho, K. (2013). Acute stress causes rapid synaptic
1188 insertion of Ca²⁺-permeable AMPA receptors to facilitate long-term potentiation in the
1189 hippocampus. *Brain*, 136(Pt 12), 3753-3765. <https://doi.org/10.1093/brain/awt293>

1190 Wirths, O., Multhaup, G., Czech, C., Blanchard, V., Moussaoui, S., Tremp, G., Pradier, L.,
1191 Beyreuther, K., & Bayer, T. A. (2001). Intraneuronal Abeta accumulation precedes plaque
1192 formation in beta-amyloid precursor protein and presenilin-1 double-transgenic mice.
1193 *Neurosci Lett*, 306(1-2), 116-120. [https://doi.org/10.1016/s0304-3940\(01\)01876-6](https://doi.org/10.1016/s0304-3940(01)01876-6)

1194 Wolf, M. E., & Tseng, K. Y. (2012). Calcium-permeable AMPA receptors in the VTA and nucleus
1195 accumbens after cocaine exposure: when, how, and why? *Front Mol Neurosci*, 5, 72.
1196 <https://doi.org/10.3389/fnmol.2012.00072>

1197 Wong, B., Zimbelman, A. R., Milovanovic, M., Wolf, M. E., & Stefanik, M. T. (2022). GluA2-lacking
1198 AMPA receptors in the nucleus accumbens core and shell contribute to the incubation of
1199 oxycodone craving in male rats. *Addict Biol*, 27(6), e13237.
1200 <https://doi.org/10.1111/adb.13237>

1201 Wright, A. L., Konen, L. M., Mockett, B. G., Morris, G. P., Singh, A., Burbano, L. E., Milham, L.,
1202 Hoang, M., Zinn, R., Chesworth, R., Tan, R. P., Royle, G. A., Clark, I., Petrou, S., Abraham,
1203 W. C., & Vissel, B. (2023). The Q/R editing site of AMPA receptor GluA2 subunit acts as an
1204 epigenetic switch regulating dendritic spines, neurodegeneration and cognitive deficits in
1205 Alzheimer's disease. *Mol Neurodegener*, 18(1), 65. [https://doi.org/10.1186/s13024-023-](https://doi.org/10.1186/s13024-023-00632-5)
1206 [00632-5](https://doi.org/10.1186/s13024-023-00632-5)

1207 Wu, X. R., Zhu, X. N., Pan, Y. B., Gu, X., Liu, X. D., Chen, S., Zhang, Y., Xu, T. L., Xu, N. J., & Sun, S.
1208 (2024). Amygdala neuronal dyshomeostasis via 5-HT receptors mediates mood and
1209 cognitive defects in Alzheimer's disease [Research Article]. *Aging Cell*, 23(8), e14187.
1210 <https://doi.org/10.1111/acer.14187>

1211 Yang, W., Zhou, X., Zimmermann, H. R., Cavener, D. R., Klann, E., & Ma, T. (2016). Repression of the
1212 eIF2alpha kinase PERK alleviates mGluR-LTD impairments in a mouse model of Alzheimer's
1213 disease. *Neurobiol Aging*, 41, 19-24. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2016.02.005>

1214 Yi, H. A., Moller, C., Dieleman, N., Bouwman, F. H., Barkhof, F., Scheltens, P., van der Flier, W. M.,
1215 & Vrenken, H. (2016). Relation between subcortical grey matter atrophy and conversion
1216 from mild cognitive impairment to Alzheimer's disease [Article]. *J Neurol Neurosurg*
1217 *Psychiatry*, 87(4), 425-432. <https://doi.org/10.1136/jnnp-2014-309105>

1218 Youmans, K. L., Tai, L. M., Kanekiyo, T., Stine, W. B., Jr., Michon, S. C., Nwabuisi-Heath, E., Manelli,
1219 A. M., Fu, Y., Riordan, S., Eimer, W. A., Binder, L., Bu, G., Yu, C., Hartley, D. M., & LaDu, M. J.
1220 (2012). Intraneuronal Abeta detection in 5xFAD mice by a new Abeta-specific antibody. *Mol*
1221 *Neurodegener*, 7, 8. <https://doi.org/10.1186/1750-1326-7-8>

1222 Zhong, M. Z., Peng, T., Duarte, M. L., Wang, M., & Cai, D. (2024). Updates on mouse models of
1223 Alzheimer's disease [Review]. *Mol Neurodegener*, 19(1), 23.
1224 <https://doi.org/10.1186/s13024-024-00712-0>

1225 Zufferey, V., Gunten, A. V., & Kherif, F. (2020). Interactions between Personality, Depression,
1226 Anxiety and Cognition to Understand Early Stage of Alzheimer's Disease. *Curr Top Med*
1227 *Chem*, 20(9), 782-791. <https://doi.org/10.2174/1568026620666200211110545>

1228

1229 **Figure legends**

1230 **Fig. 1** A β accumulates intracellularly in both D1R⁺ and D1R⁻ MSNs in the nAc of
1231 APP/PS1 mice during pre-plaque stages. **(A)** Representative immunohistochemistry of
1232 coronal nAc sections (30 μ m) from 3-month-old WT and APP/PS1 mice labeled with
1233 MOA β -2, MAP2, and Hoechst. APP/PS1 mice show detectable intracellular A β
1234 immunoreactivity. Right panels display magnified insets (dashed boxes) highlighting
1235 intracellular signal within individual neuronal somata. **(B)** Quantification of MOA β -2
1236 fluorescence intensity under a MAP2 mask shows significantly higher intracellular A β
1237 levels in APP/PS1 mice compared with WT (unpaired two-tailed t test, $t(8)=7.111$,
1238 $**p<0.001$). Each point represents the mean value per animal (WT $n=5$; APP/PS1 $n=5$).
1239 A total of 20 neurons per animal were analyzed. **(C)** Immunohistochemistry of 6-month-
1240 old WT/D1RtdTomato and APP/PS1/D1RtdTomato nAc sections labeled with MOA β -2,
1241 D1RtdTomato, MAP2, and Hoechst. Left panels show tile-scan images; middle panels
1242 present magnified fields (dashed boxes). Filled white arrowheads indicate D1R⁺ MSNs
1243 (tdTomato⁺), whereas open white arrowheads denote D1R⁻ MSNs (tdTomato⁻). Right
1244 panels show single-cell zoom-ins corresponding to each MSN subtype **(D)** Quantification
1245 of intracellular A β intensity in identified D1R⁺ and D1R⁻ MSN somas at 6 months.
1246 APP/PS1 mice exhibit significantly elevated A β levels in both MSN subtypes compared
1247 with WT (one-way ANOVA followed by Tukey's test: WT D1R⁺ vs APP/PS1 D1R⁺,
1248 $p=0.002$; WT D1R⁻ vs APP/PS1 D1R⁻, $p=0.002$). Each point represents the mean value
1249 per animal ($n=5$ per genotype). A total of WT: 50 D1R⁺ and 47 D1R⁻ cells, APP/PS1: 40
1250 D1R⁺ and 45 D1R⁻ MSN somas were analyzed. Scale bars: 20 μ m; insets scale bar 5
1251 μ m

1252 **Fig. 2** HFS-LTD is selectively impaired in D1R⁺ MSNs, but preserved in D1R⁻ MSNs, in
1253 the nAc of 6-month-old APP/PS1 mice. **(A)** Schematic representation of the experimental
1254 strategy. Crossing APP/PS1 mice with *Drd1a*-tdTomato reporter mice enables selective
1255 identification of D1R⁺ MSNs. The experimental timeline indicates baseline eEPSC

1256 acquisition (1; 10 min), HFS-LTD induction (four trains at 100 Hz, 1 s duration, delivered
1257 every 20 s), and subsequent monitoring of LTD expression. LTD magnitude was
1258 calculated by normalizing the mean eEPSC amplitude measured during the final 10 min
1259 of the recording period (2; 40–50 min) to the baseline period (1). **(B)** Representative pair-
1260 pulse evoked EPSC traces recorded from D1R+ and D1R- MSNs in WT/D1RtdT and
1261 APP/PS1/D1RtdT mice before (baseline) and after HFS-LTD induction. Paired-pulse
1262 stimulation was used to assess presynaptic release probability. Scale 50pA/35ms **(C)**
1263 Time course of normalized eEPSC amplitude in D1R+ (left) and D1R- (right) MSNs. **(D)**
1264 Quantification of LTD magnitude calculated from the last 10 min of the recording (40–50
1265 min) revealed a significant reduction of LTD in D1R+ MSNs from APP/PS1 mice
1266 compared with WT D1R+ MSNs (one-way ANOVA, $F(3,19)=6.170$, $p=0.004$; Tukey's post
1267 hoc test, WT D1R+ vs. APP/PS1 D1R+, $p=0.015$). In addition, LTD magnitude differed
1268 between D1R+ and D1R- MSNs within APP/PS1 mice (Tukey's post hoc test, $p=0.005$).
1269 **(E)** Quantification of paired-pulse ratio (PPR; post/pre) showed no significant differences
1270 between genotypes or MSN subtypes (Kruskal–Wallis test, $p=0.279$; Dunn's multiple
1271 comparisons test). Each data point represents a single recorded neuron. Number of
1272 neurons and mice analyzed: WT D1R+ ($n=6/5$), WT D1R- ($n=7/5$), APP/PS1 D1R+
1273 ($n=6/5$), APP/PS1 D1R- ($n=4/4$). Graphs show mean \pm s.e.m. * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

1274 **Fig. 3** AMPAR-related synaptic alterations in the nucleus accumbens of 6-month-old
1275 APP/PS1 mice. **(A)** Schematic representation of the experimental design used to assess
1276 AMPAR- and NMDAR-mediated synaptic transmission in MSNs of the nAc from 6-month-
1277 old WT and APP/PS1 mice. Whole-cell voltage-clamp recordings were performed at +40
1278 mV to isolate mixed AMPA+NMDA eEPSCs, followed by pharmacological isolation of
1279 AMPAR-mediated currents after APV application and digital subtraction to obtain NMDA
1280 receptor-mediated component. **(B)** Representative AMPAR- and NMDAR-mediated
1281 eEPSCs recorded at +40 mV from MSNs of WT (black) and APP/PS1 (red) mice. **(C)**
1282 Quantification of the AMPA/NMDA ratio reveals a significant reduction in APP/PS1 mice
1283 compared with WT (unpaired two-tailed t-test, $t(23)=2.236$, $P=0.027$; $n=(\text{neurons/mice})$
1284 WT: $n=12/4$; APP/PS1: $n=13/4$). Scale 50pA/100ms **(D)** Representative Western blots of
1285 synaptic proteins extracted from the nAc of WT and APP/PS1 mice. **(E)** Quantification of
1286 protein expression levels normalized to G β . No significant difference was observed in the

1287 presynaptic marker SV2 between genotypes (unpaired two-tailed t-test, $t(15)=0.1462$,
1288 $P=0.886$; WT $n=8$, APP/PS1 $n=9$). PSD95 levels were significantly increased in APP/PS1
1289 mice (unpaired two-tailed t-test with Welch's correction, $t(16.19)=2.762$, $P=0.014$; WT
1290 $n=12$, APP/PS1 $n=12$). GluA1 expression was significantly elevated in APP/PS1 mice
1291 (Mann–Whitney test, $U=80.50$, exact two-tailed $P=0.016$; WT $n=19$, APP/PS1 $n=16$).
1292 GluA2 levels were also significantly increased in APP/PS1 mice (unpaired two-tailed t-
1293 test, $t(18)=3.314$, $P=0.0039$; WT $n=9$, APP/PS1 $n=11$). Data are presented as mean \pm
1294 s.e.m. * $p<0.05$, ** $p<0.01$.

1295 **Fig. 4** Enhanced AMPAR-mediated excitatory transmission selectively in D1R+ MSNs of
1296 6-month-old APP/PS1 mice. **(A)** Schematic representation of the experimental
1297 configuration for whole-cell voltage-clamp recordings of AMPAR-mediated spontaneous
1298 EPSCs (sEPSCs) in accumbal brain slices from 6-month-old WT/D1RtdT and
1299 APP/PS1/D1RtdT mice. **(B)** Representative sEPSC traces recorded at -60 mV from
1300 D1R+ (top) and D1R- (bottom) MSNs in WT (black) and APP/PS1 (red) mice. Scale
1301 $6\text{pA}/5\text{s}$ **(C)** Cumulative probability distributions of sEPSC amplitudes showing a rightward
1302 shift selectively in APP/PS1 D1R+ MSNs compared with WT D1R+ MSNs (Welch's
1303 ANOVA, $p<0.001$). Scale $5\text{pA}/5\text{s}$ **(D)** Amplitude distribution histograms and box plots
1304 reveal a significant increase in sEPSC amplitude in APP/PS1 D1R+ MSNs relative to WT
1305 D1R+ MSNs (Games–Howell post hoc test, mean difference = -4.71 pA, 95% CI -5.29 to
1306 -4.14 , $p<0.001$), whereas no difference was detected between WT and APP/PS1 D1R-
1307 MSNs ($p=0.094$). **(E)** Representative averaged sEPSC event from D1R+ and D1R-
1308 MSNs in WT/D1RtdT and APP/PS1/D1RtdT mice. Scale $2\text{pA}/5\text{ms}$. **(F)** Quantification of
1309 sEPSC frequency shows no significant differences across groups (one-way ANOVA,
1310 $F(3,27)=1.89$, $p=0.155$). Scale $2\text{pA}/5\text{ms}$ **(G)** Two-way ANOVA of sEPSC amplitude
1311 reveals a significant interaction between genotype and MSN subtype ($F(1,18)=5.86$,
1312 $p=0.0057$). Šídák post hoc comparisons show increased sEPSC amplitude in APP/PS1
1313 D1R+ MSNs compared with WT D1R+ MSNs (mean difference = -2.67 pA, 95% CI -5.28
1314 to -0.07 , $p=0.044$), with no differences in D1R- MSNs ($p=0.979$). **(H)** Rise time analysis
1315 shows no significant differences among groups (one-way ANOVA, $F(3,30)=0.66$,
1316 $p=0.582$). **(I)** Decay time analysis shows no significant differences among groups (one-

1317 way ANOVA, $F(3,30)=1.88$, $p=0.154$). Data are presented as mean \pm s.e.m. * $p<0.05$,
1318 *** $p<0.001$.

1319 **Fig. 5** Enhanced functional contribution of calcium-permeable AMPA receptors in the nAc
1320 of APP/PS1 mice at pre-plaque stages. **(A)** AAV-GCaMP6s was injected into the nAc of
1321 WT and APP/PS1 mice and allowed to express for 2–3 weeks before acute accumbal
1322 slice preparation for calcium imaging. **(B)** Representative electrically evoked calcium
1323 transients recorded in the nAc of 6-month-old WT (black) and APP/PS1 (red) mice before
1324 and after application of the AMPAR antagonist CNQX. Scale 25% $\Delta F/F/2s$. **(C)** Time
1325 course of normalized Ca^{2+} -dependent GCaMP6s fluorescence activity (% of baseline)
1326 showing a larger inhibition with CNQX incubation in APP/PS1 accumbal brain slices. **(D)**
1327 Quantification of CNQX-sensitive Ca^{2+} activity reveals significantly greater inhibition in
1328 APP/PS1 mice compared with WT (unpaired two-tailed t-test, $t(15)=3.725$, $p=0.002$; WT
1329 9 recordings/4 mice; APP/PS1 8/4). **(E)** Whole-cell voltage-clamp configuration for
1330 recording electrically evoked EPSCs (eEPSCs) in MSNs from the nAc of 6-month-old
1331 mice. Recordings were performed using an internal solution containing spermine (100
1332 μM). **(F)** Representative eEPSC traces recorded at -60 mV to +40 mV ($\Delta 20$ mV) from WT
1333 (black) and APP/PS1 (red) MSNs. Scale 50pA/15ms **(G)** Current–voltage relationships
1334 showing reduced inward rectification in APP/PS1 MSNs. **(H)** Quantification of the RI
1335 shows a significant decrease in APP/PS1 MSNs (unpaired two-tailed t-test, $t(14)=2.989$,
1336 $p=0.0098$). Sample size (neurons/mice number) WT $n=10/4$; APP/PS1 $n=6/4$. **(I)**
1337 Experimental protocol for pharmacological isolation of calcium-permeable AMPARs using
1338 NASPM. **(J)** Representative eEPSC traces recorded before and after NASPM application
1339 (150 μM). Scale 30pA/25ms. **(K)** Time course of normalized eEPSC amplitude (% of
1340 baseline) showing greater NASPM-induced inhibition in APP/PS1 MSNs. **(L)**
1341 Quantification of NASPM-sensitive eEPSC inhibition confirms increased NASPM
1342 sensitivity in APP/PS1 MSNs compared with WT (unpaired two-tailed t-test, $t(14)=2.98$,
1343 $p=0.0098$). Sample size (neurons/mice); WT 9/4; APP/PS1 9/4. Data are presented as
1344 mean \pm s.e.m.; each data point represents a single recording or neuron.

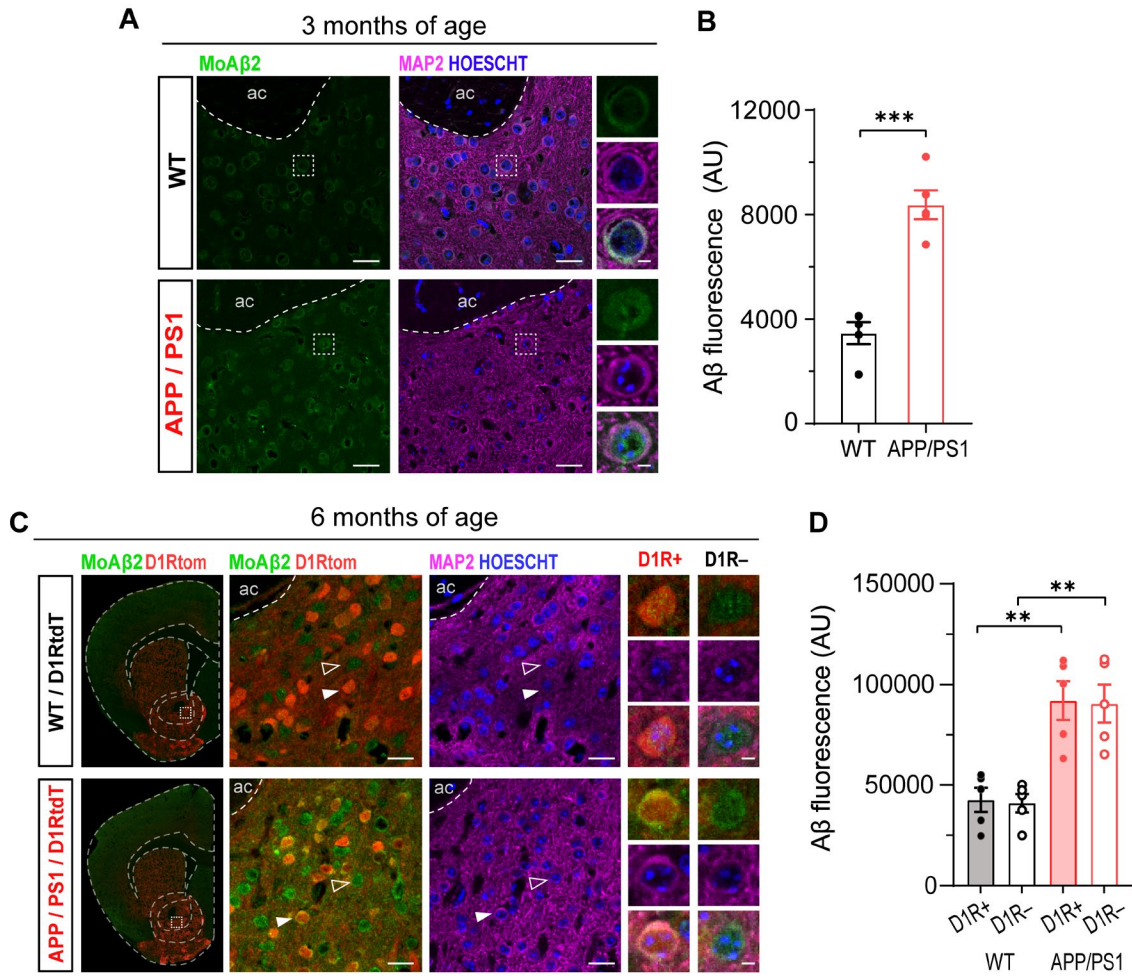
1345 **Fig. 6** Impaired mGluR1/5-dependent LTD and CP-AMPA dysregulation in accumbal
1346 D1R+ MSNs of APP/PS1 mice. **(A)** Schematic of whole-cell voltage-clamp recordings

1347 performed in MSNs from the nAc of 6-month-old WT/D1RtdT and APP/PS1/D1RtdT mice.
1348 D1R+ MSNs were identified by tdTomato expression. After baseline (1) acquisition, LTD
1349 was induced by bath application of DHPG (50 μ M, 5 min) and analyzed between 30-35
1350 minutes (2) respect baseline, followed by application of NASPM (150 μ M), analyzed at
1351 the last 5 minutes of recording (3) respect to baseline. **(B)** Representative AMPAR-
1352 mediated eEPSC traces recorded from D1R+ (top) and D1R- (bottom) MSNs at baseline,
1353 after DHPG-induced LTD, and during NASPM incubation in WT (black) and APP/PS1
1354 (red) mice. Paired-pulse responses were obtained using double-pulse stimulation ($\Delta t=70$
1355 ms). Scale 50pA/40ms **(C)** Time course of normalized eEPSC amplitudes (% baseline) in
1356 D1R+ (left) and D1R- (right) MSNs. DHPG-induced LTD was markedly reduced in D1R+
1357 MSNs from APP/PS1 mice and partially restored by NASPM, whereas D1R- MSNs
1358 exhibited comparable LTD between genotypes. Black bars indicate periods of DHPG and
1359 NASPM application. **(D)** Quantification of normalized eEPSC amplitudes at baseline, after
1360 DHPG-LTD, and during NASPM application. A mixed-effects REML analysis revealed
1361 significant main effects of stage ($F(1.845, 36.90)=127.7, p<0.001$), genotype ($F(3,$
1362 $20)=4.292, p=0.017$), and a stage \times genotype interaction ($F(6, 40)=5.105, p<0.001$).
1363 Tukey's post hoc tests showed reduced LTD in APP/PS1 D1R+ MSNs compared with
1364 WT D1R+ ($p=0.039$) and APP/PS1 D1R- MSNs ($p=0.014$). **(E)** Quantification of paired-
1365 pulse ratio (PPR; post/pre LTD) revealed no significant differences among groups
1366 (Kruskal-Wallis test, $H(3)=1.928, p=0.587$; Dunn's multiple comparisons test, all adjusted
1367 $p>0.999$). Data are presented as mean \pm s.e.m. Sample size (neurons/mice number): WT
1368 D1R+ MSNs 6/4; WT D1R- MSNs 5/4; APP/PS1 D1R+ MSNs 7/5; APP/PS1 D1R- MSNs
1369 6/5.

1370 **Fig. 7** Reduced dopamine-dependent signaling in the nucleus accumbens and altered
1371 reward-related behavior in APP/PS1 mice. **(A)** AAV-dLight1.1 was injected into the nAc
1372 of WT and APP/PS1 mice and allowed to express for 2-3 weeks before acute slice
1373 preparation for dopamine imaging. Dopamine-dependent fluorescence signals were
1374 recorded using slice photometry following electrical stimulation. **(B)** Representative
1375 dLight1.1 fluorescence traces evoked by electrical stimulation in nAc slices from 6-month-
1376 old WT (black) and APP/PS1 (red) mice. Scale 100% $\Delta F/F/5s$. **(C)** Input-output
1377 relationship between normalized dLight1.1 fluorescence ($\Delta F/F\%$) and stimulus intensity

1378 reveals a reduced dopamine-dependent signal in APP/PS1 mice (two-way ANOVA with
1379 Bonferroni post hoc test, *** $p < 0.001$). Sample size (recording/mice number) WT: $n = 12/4$;
1380 APP/PS1: $n = 10/3$. **(D)** Schematic of the conditioned place preference (CPP) experimental
1381 design, including pre-conditioning, conditioning, and post-conditioning phases, using
1382 wide and small grid contexts. **(E)** Pre-conditioning analysis of grid preference shows
1383 increased baseline preference for the small grid in APP/PS1 mice compared with WT
1384 (two-way ANOVA, grid type effect $F(1,14) = 22.04$, $p < 0.001$; WT, $P = 0.121$; APP/PS1,
1385 $p < 0.001$). **(F)** CPP test reveals increased time spent in the reward-associated context
1386 (Cs+) compared with the non-rewarded context (Cs-) in both genotypes, with a stronger
1387 effect in APP/PS1 mice (two-way ANOVA, interaction $F(1,14) = 6.25$, $p = 0.0254$; grid effect
1388 $F(1,14) = 21.90$, $p = 0.0004$; genotype effect $F(1,14) = 3.047 \times 10^3$, $p > 0.999$; Bonferroni post
1389 hoc test, WT $p = 0.012$, APP/PS1 $p < 0.0001$). **(G)** Chocolate consumption during the
1390 conditioning phase is increased in APP/PS1 mice compared with WT across days (two-
1391 way ANOVA, time effect $P < 0.0001$; Bonferroni post hoc test, day 6 $p = 0.0171$, day 8
1392 $p = 0.0003$). **(H)** Pellet consumption during conditioning shows no significant differences
1393 between genotypes. Data are presented as mean \pm s.e.m. unless otherwise indicated.
1394 Sample size: 8 mice per genotype.

1395 **Fig. 8** Proposed mechanistic model underlying selective synaptic plasticity impairment in
1396 the nucleus accumbens during early stages of Alzheimer's disease. Schematic model
1397 illustrating the integration of glutamatergic and dopaminergic signaling onto nAc MSNs
1398 during pre-plaque stages of AD, when intracellular A β is present in the absence of
1399 extracellular plaques. In D1R-negative MSNs (left, purple; putatively D2R-expressing),
1400 synaptic plasticity is preserved despite intracellular A β accumulation, consistent with
1401 intact mGluR1/5 signaling and putatively reduced engagement of PKA-dependent
1402 pathways. In contrast, D1R-positive expressing MSNs (right, red) exhibit impaired
1403 mGluR1/5-dependent LTD, leading to deficient AMPAR endocytosis and persistent
1404 functional presence of CP-AMPA. Reduced dopaminergic tone may preferentially
1405 weaken D1R-dependent signaling, allowing intracellular A β to promote PKA-dependent
1406 AMPAR stabilization, potentially facilitated by increased PSD-95. At the circuit level, these
1407 early, cell-type-specific alterations are proposed to bias mesolimbic output and contribute
1408 to selective changes in reward-related behavior during early AD.



1410

1411

1412

1413

1414

1415

1416

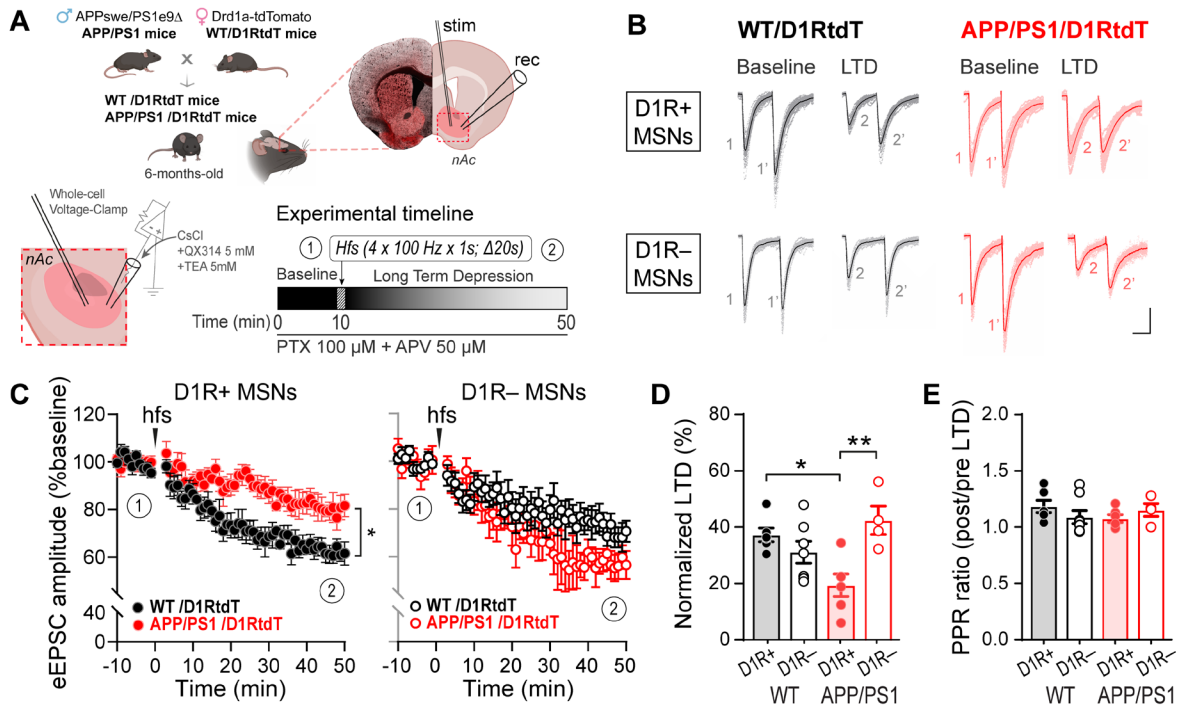
1417

1418

1419

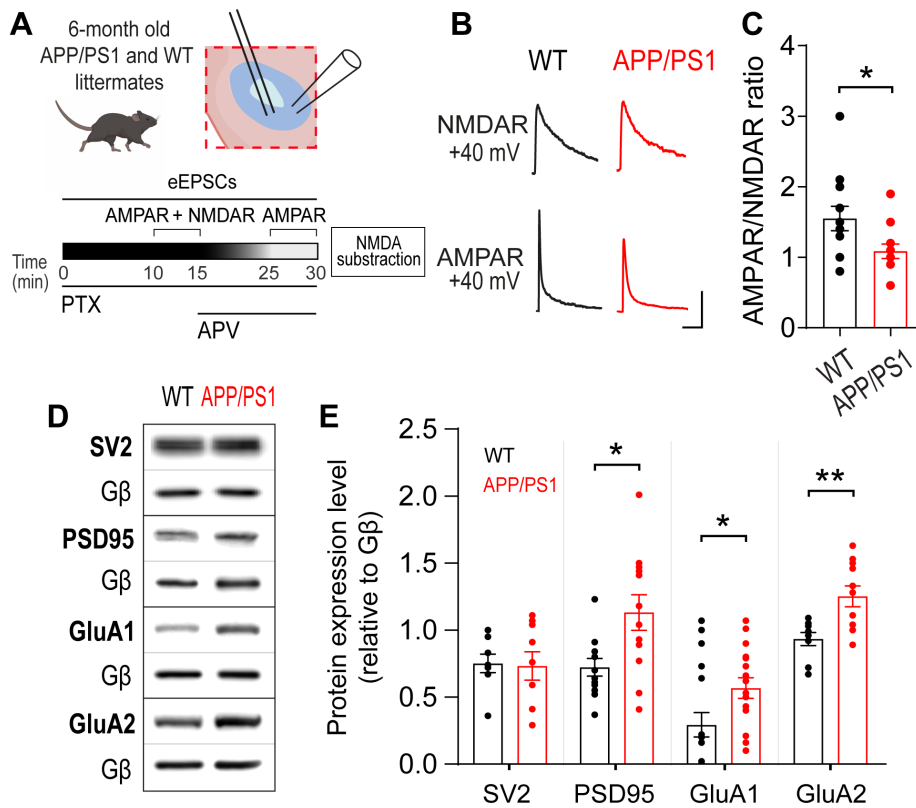
1420

1421 **Figure 2**



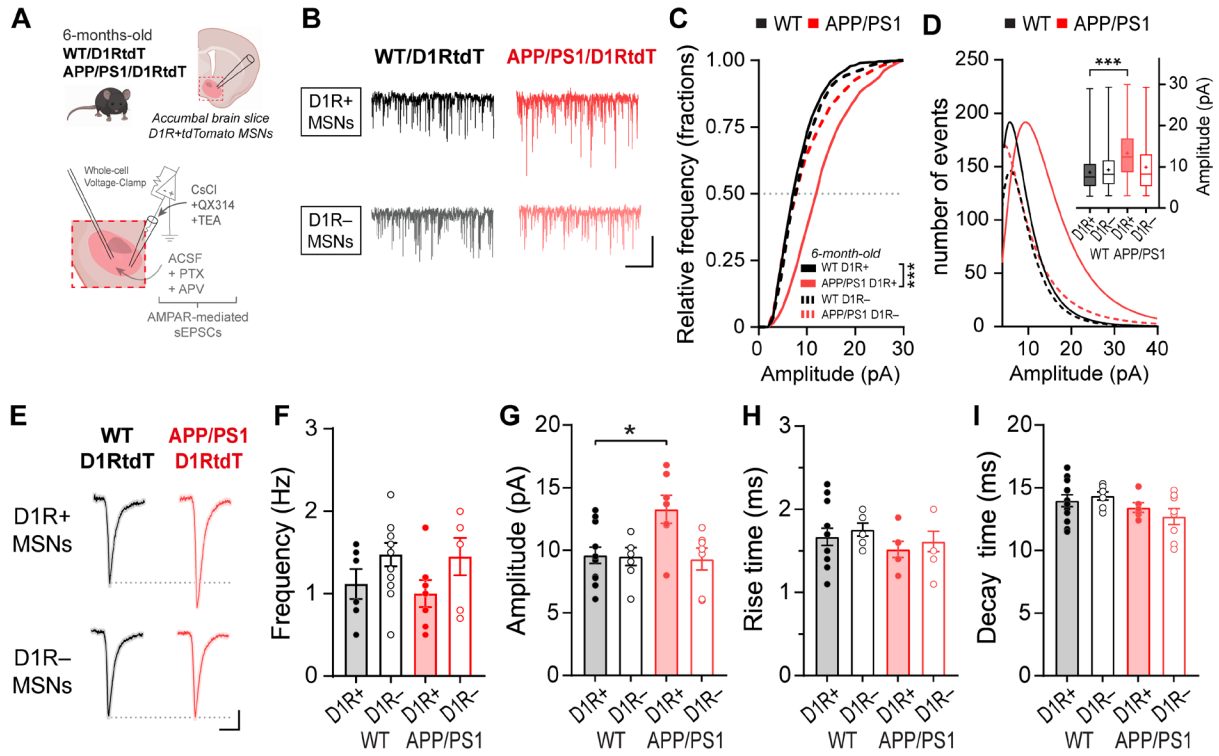
1422

1423 **Figure 3**



1424

1425 **Figure 4**



1426

1427

1428

1429

1430

1431

1432

1433

1434

1435

1436

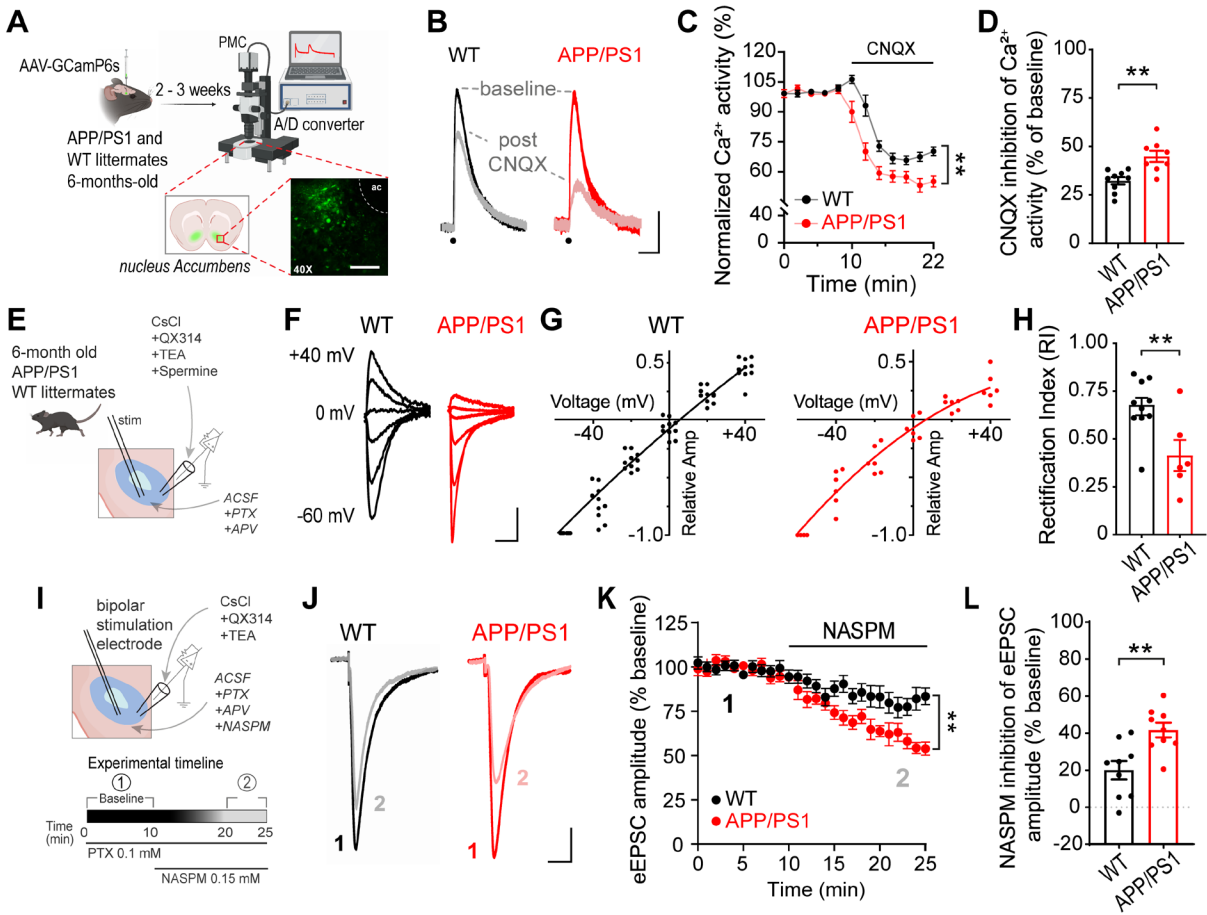
1437

1438

1439

1440

1441 **Figure 5**



1442

1443

1444

1445

1446

1447

1448

1449

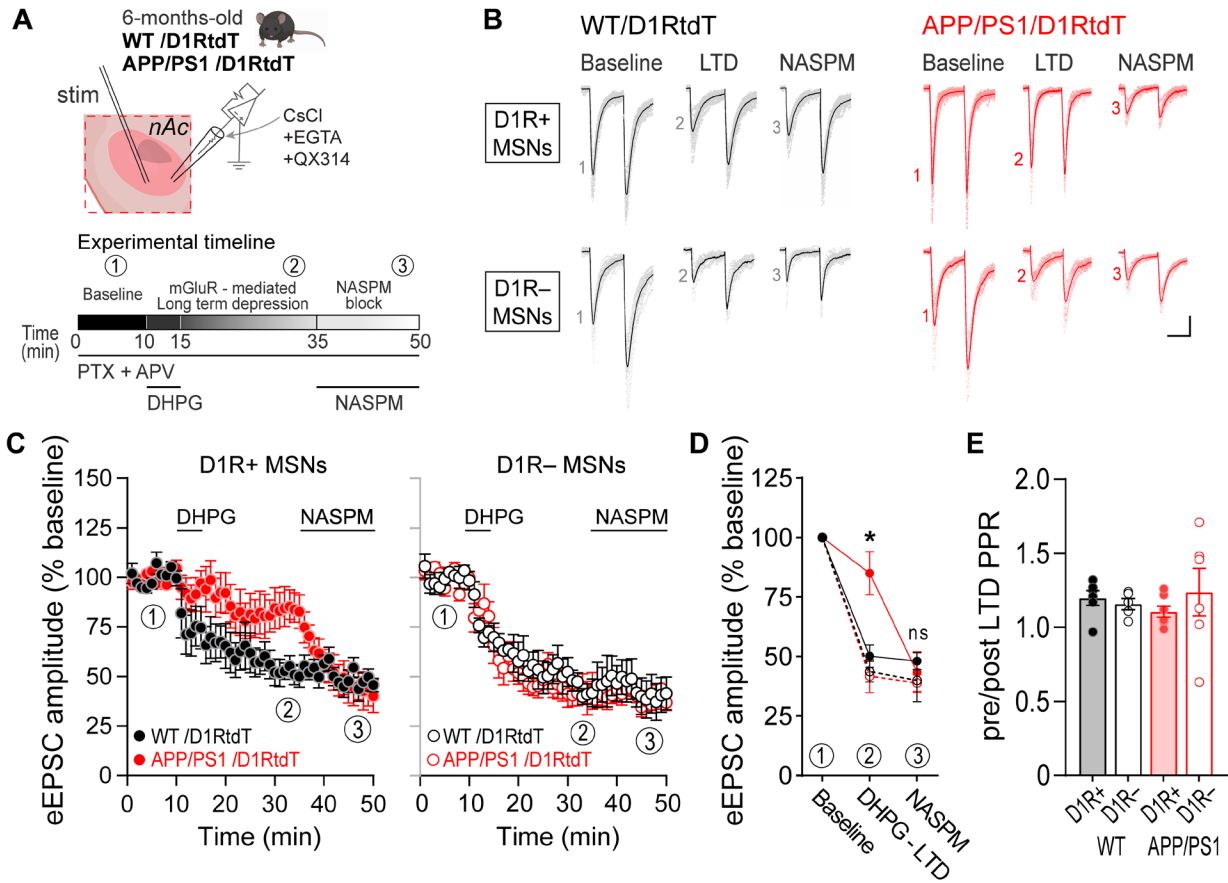
1450

1451

1452

1453

1454 **Figure 6**



1455

1456

1457

1458

1459

1460

1461

1462

1463

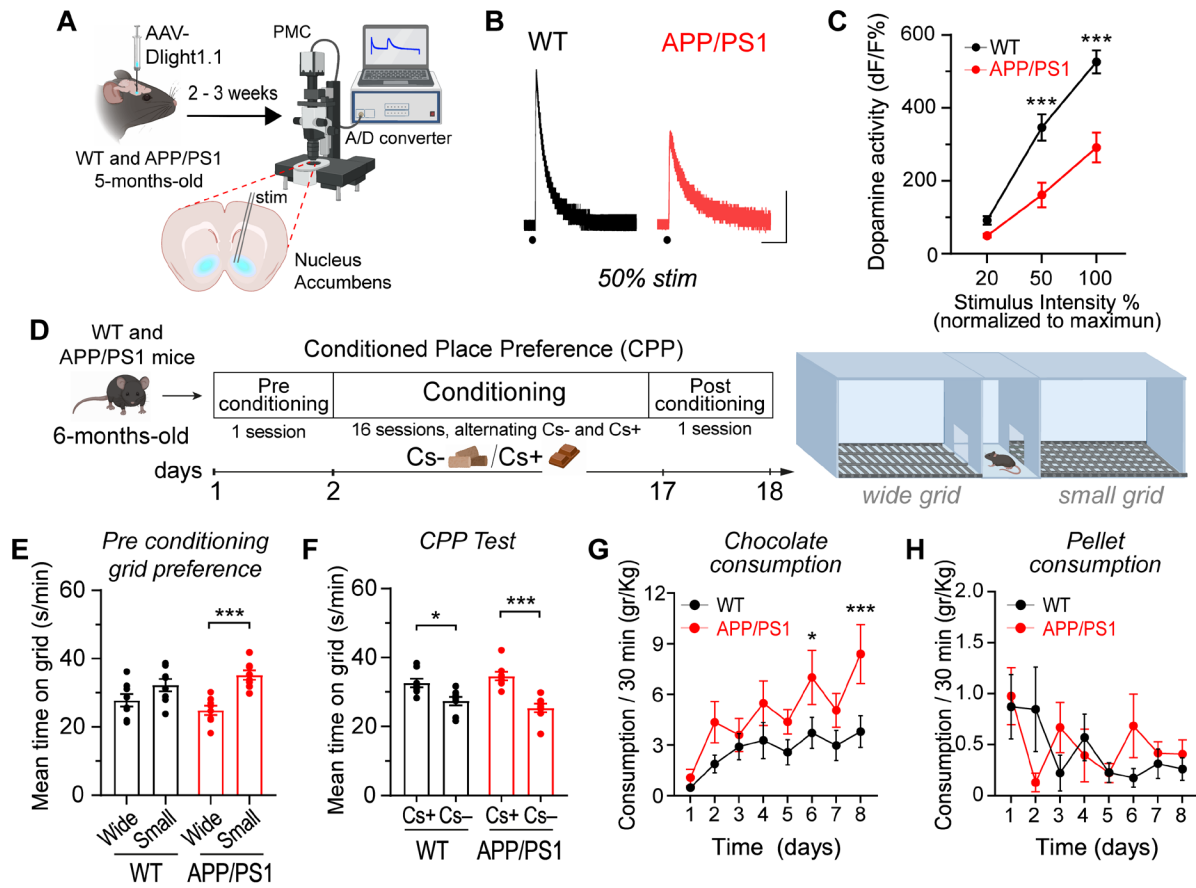
1464

1465

1466

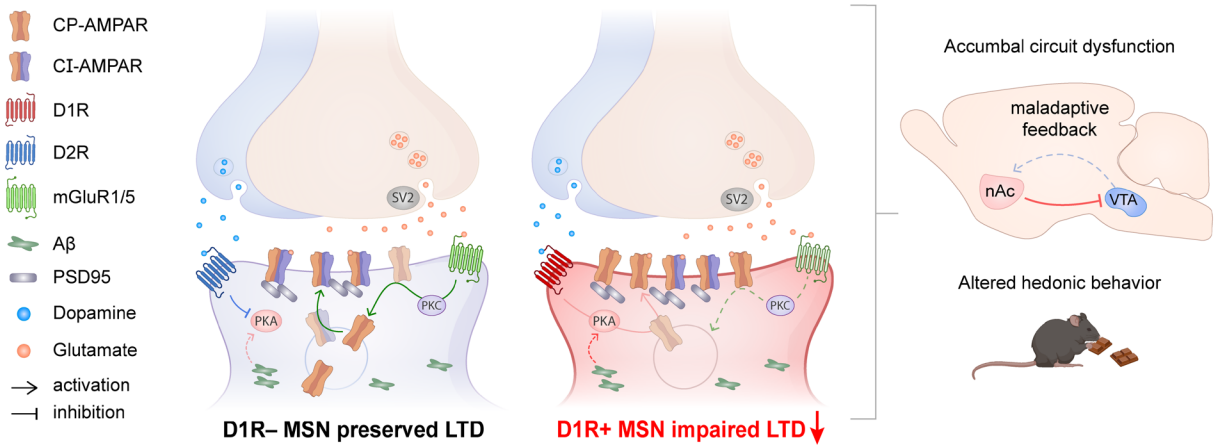
1467

1468 **Figure 7**



1469

1470 **Figure 8**



1471

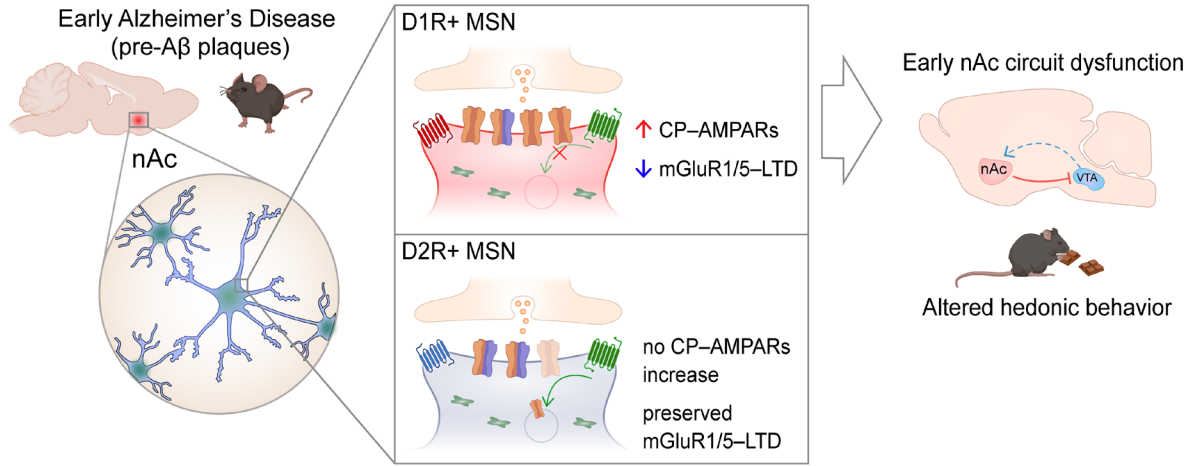
1472

1473

1474

1475

Graphical abstract



1476